

Βιολογία Ι
Βασικές Αρχές Κυτταρικής Βιολογίας

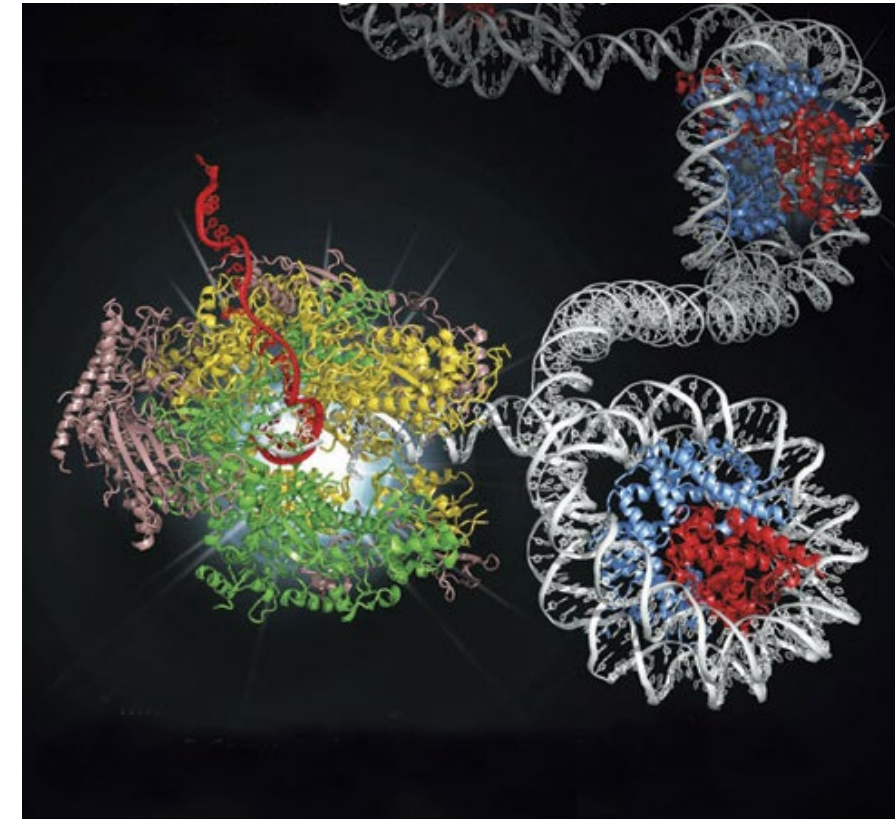
Ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης

Γιάννης Δρόσος
Επίκουρος Καθηγητής
Εργαστήριο Βιολογίας
Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Πατρών
idrosov@upatras.gr

Βασικές έννοιες



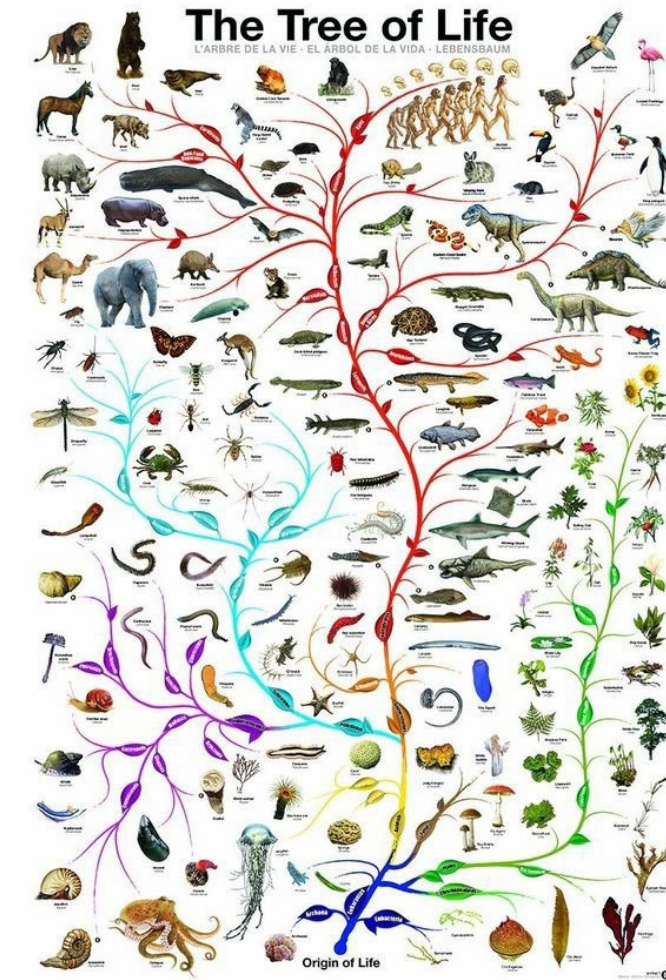
- Έκφραση γονιδίων
- Διαφοροποίηση
- Μεταγραφικοί ρυθμιστές
- Οπερόνιο Λακτόζης
- Επιγενετική κληρονόμηση
- Μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ιστονών
- Μεθυλίωση DNA
- Επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα
- Μη κωδικοποιητικά, ρυθμιστικά μόρια RNA



Ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης



- Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης είναι ο τρόπος με τον οποίο ένα κύτταρο ελέγχει **ποια γονίδια**, από τα πολλά γονίδια στο γονιδίωμα του, «**ενεργοποιούνται**» (**εκφράζονται**). Χάρη στη γονιδιακή ρύθμιση, κάθε τύπος κυττάρου στο σώμα μας έχει διαφορετικό σύνολο ενεργών γονιδίων
- Αυτά τα **διαφορετικά μοτίβα γονιδιακής έκφρασης** κάνουν τους διάφορους τύπους κυττάρων να έχουν **διαφορετικά σύνολα πρωτεϊνών**, καθιστώντας κάθε τύπο κυττάρου **μοναδικά εξειδικευμένο** για να επιτελεί το έργο του.
- Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης είναι πολύ σημαντική για την **ανάπτυξη** του οργανισμού, τη **διαφοροποίηση** των κυττάρων, τη διατήρηση της **ομοιόστασής** τους, και την **προσαρμογή** στο περιβάλλον



Βασικοί τύποι κυττάρων: σωματικά και γεννητικά κύτταρα



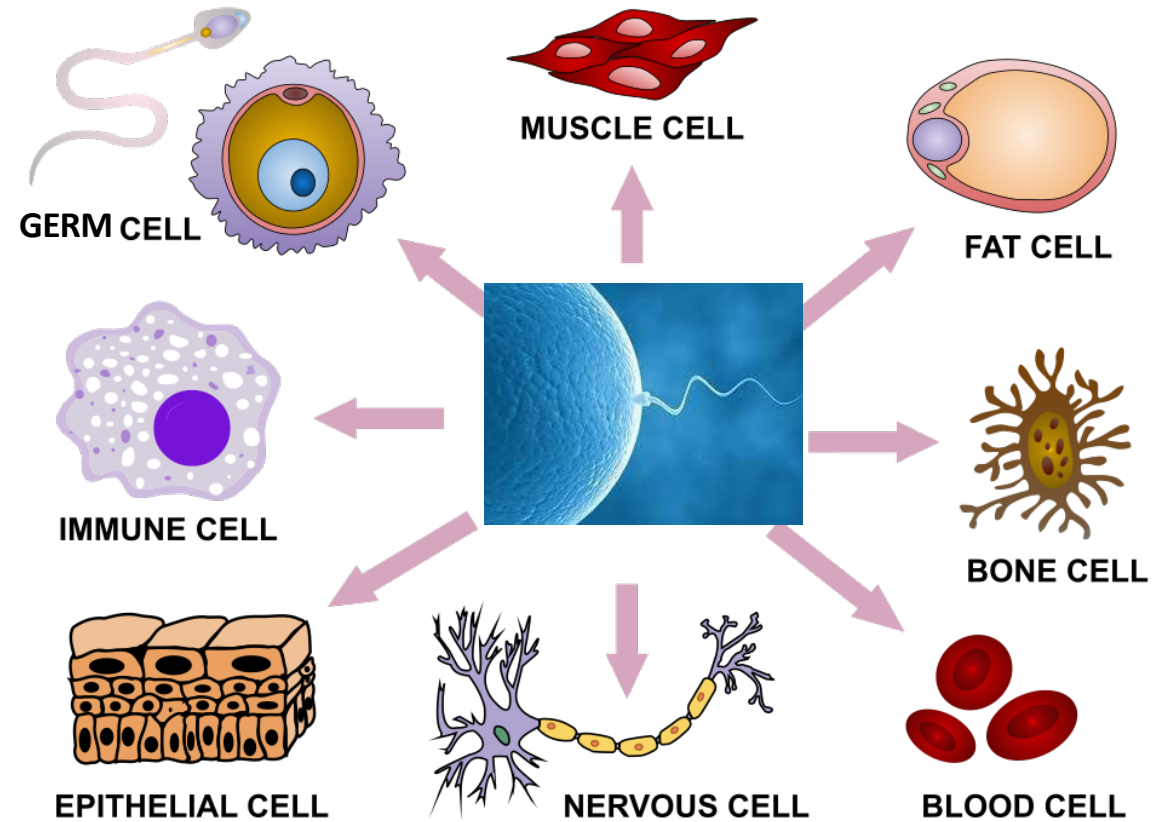
(37 τρισεκατομμύρια κύτταρα = 3.7×10^{13})

Βασικές κατηγορίες κυττάρων

- ✕ Σωματικά κύτταρα (somatic cells)
- ✕ Γεννητικά κύτταρα (γαμέτες) (germ cells)

Βλαστοκύτταρα (Stem cells) Εμβρυικά

- ✕ (embryonic stem cells)
- ✕ Ιστοειδικά (tissue-specific stem cells)
- ✕ **Επαγώμενα πολυδύναμα (induced pluripotent stem cells)**



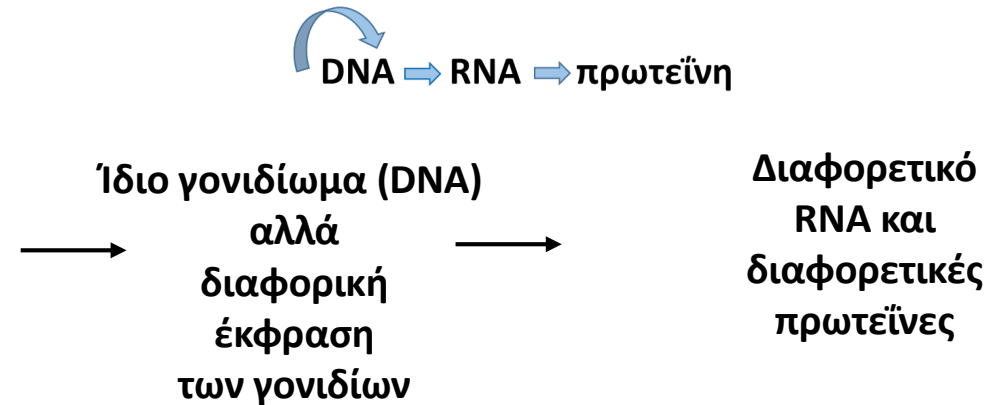
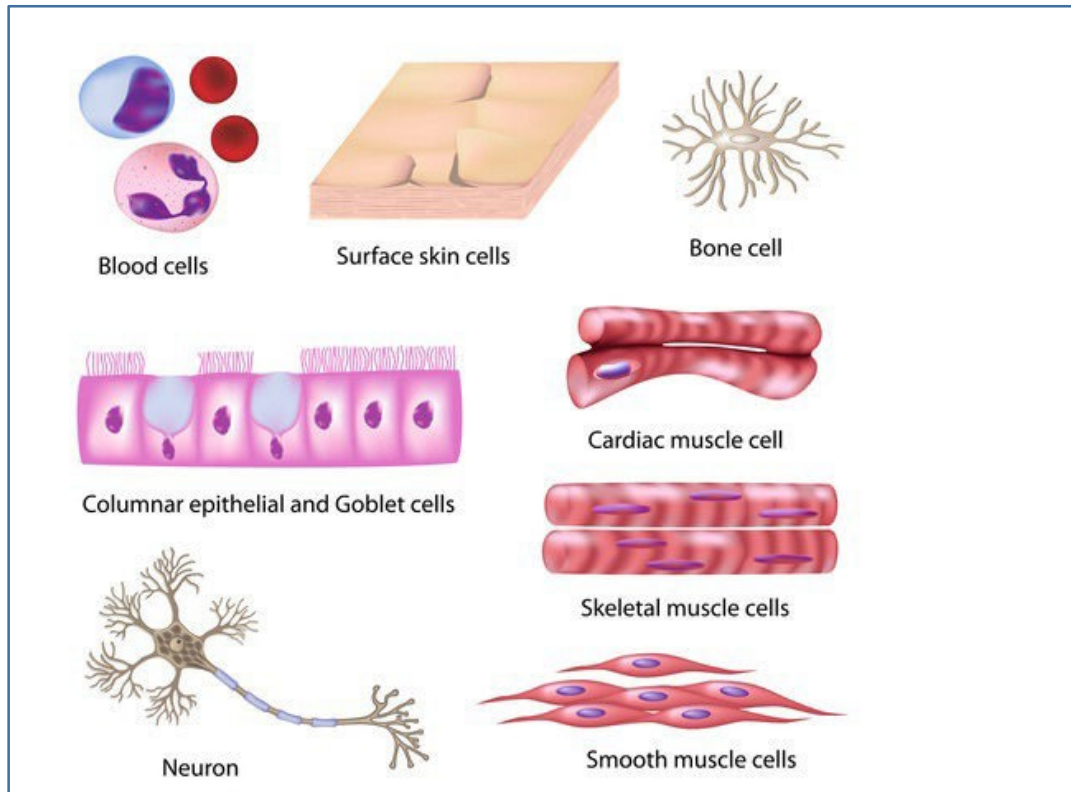
Η διαφοροποίηση επιτυγχάνεται με τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης



Η έννοια της **διαφοροποίησης** των κυττάρων:

..από ένα αρχικό κύτταρο (ζυγωτό) προκύπτουν πολλοί διαφορετικοί τύποι κυττάρων..

..στον άνθρωπο: ~ **200 τύποι** κυττάρων....(37 τρισεκατομμύρια κύτταρα = 3.7×10^{13})



Διαφορετικά είδη κυττάρων παράγουν διαφορετικά σύνολα RNA & πρωτεϊνών



1. Πρωτεΐνες που είναι κοινές σε όλα τα κύτταρα («γενικών καθηκόντων» ή «διαχειρίστριες» - house keeping), για παράδειγμα

- πρωτεΐνες κυτταροσκελετού & χρωμοσωμάτων
- πολυμεράσες των νουκλεϊκών οξέων (RNA & DNA)
- ένζυμα επιδιόρθωσης του DNA
- πρωτεΐνες ενδοπλασματικού δικτύου και Golgi
- ριβοσωματικές πρωτεΐνες
- πρωτεΐνες του βασικού μεταβολισμού των κυττάρων

Ένα διαφοροποιημένο κύτταρο θηλαστικού συνήθως εκφράζει 5-15,000 γονίδια από σύνολο 25,000 γονιδίων

Οι διαφορές στο πρότυπο γονιδιακής έκφρασης (**RNA και πρωτεΐνες**) των εξειδικευμένων κυττάρων είναι ποιοτικές & ποσοτικές

2. Κυτταρο-ειδικές/ιστοειδικές πρωτεΐνες (cell type specific)

- πρωτεΐνες της αιμοσφαιρίνης (δικτυοερυθροκύτταρα)
- αντισώματα (λεμφοκύτταρα)
- ινσουλίνη (β κύτταρα παγκρέατος)
- γλυκαγόνη (α κύτταρα παγκρέατος)

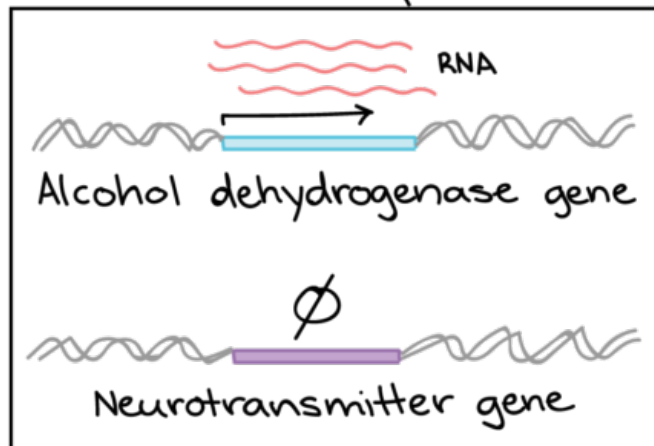
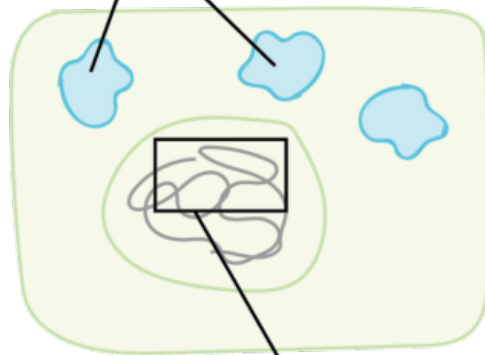
Η έκφραση διαφορετικών ομάδων γονιδίων στους διάφορους τύπους κυττάρων προκαλεί τις μεγάλες **διακυμάνσεις μεγέθους, σχήματος, συμπεριφοράς και λειτουργίας**

Διαφορετικά είδη κυττάρων παράγουν διαφορετικά σύνολα RNA & πρωτεϊνών



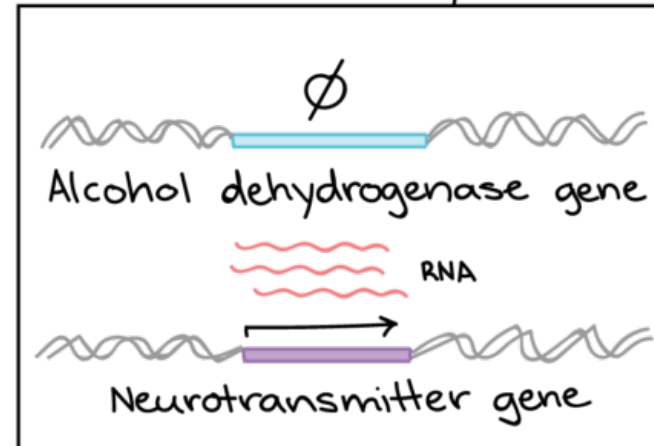
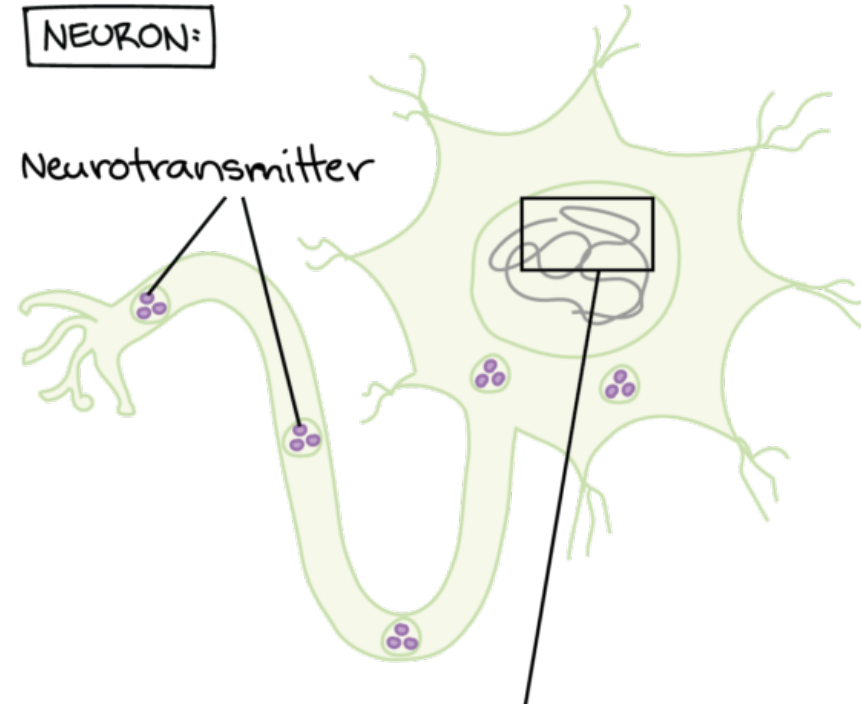
LIVER CELL:

Alcohol dehydrogenase



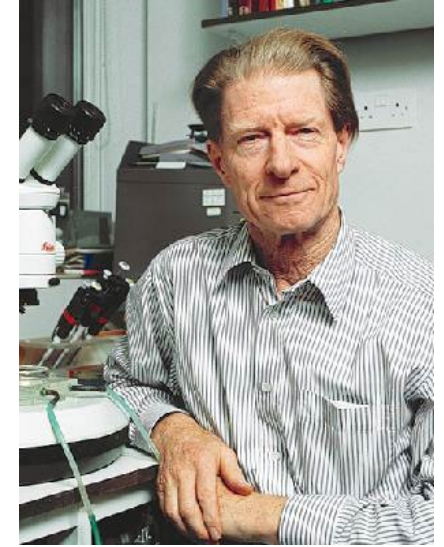
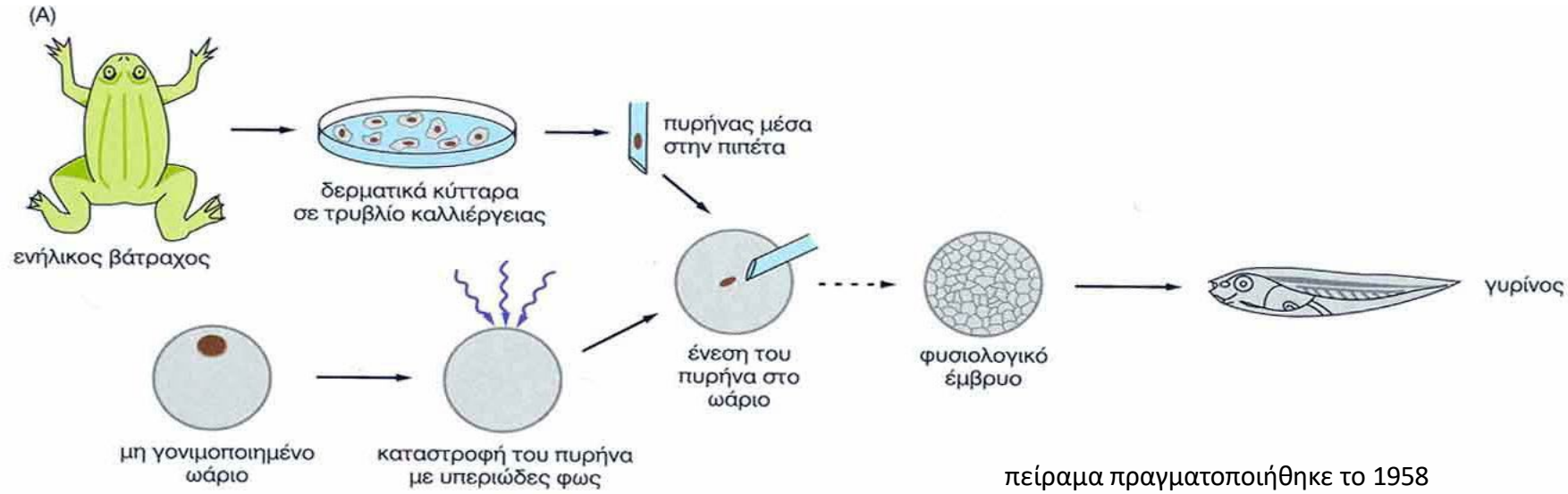
NEURON:

Neurotransmitter





Τα διαφοροποιημένα κύτταρα έχουν όλες τις πληροφορίες για τη δημιουργία ολόκληρου οργανισμού

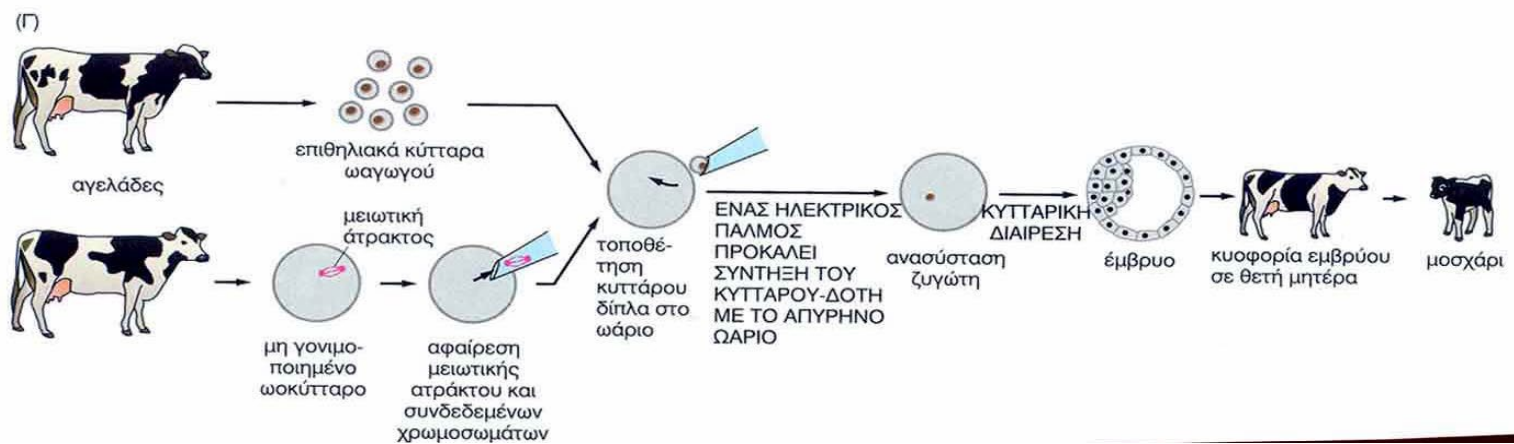


Sir/Prof. **John Gurdon** received the 2012 Nobel Prize: για την ανακάλυψη ότι τα ώριμα κύτταρα μπορούν να επαναπρογραμματιστούν ώστε να γίνουν πολυδύναμα.

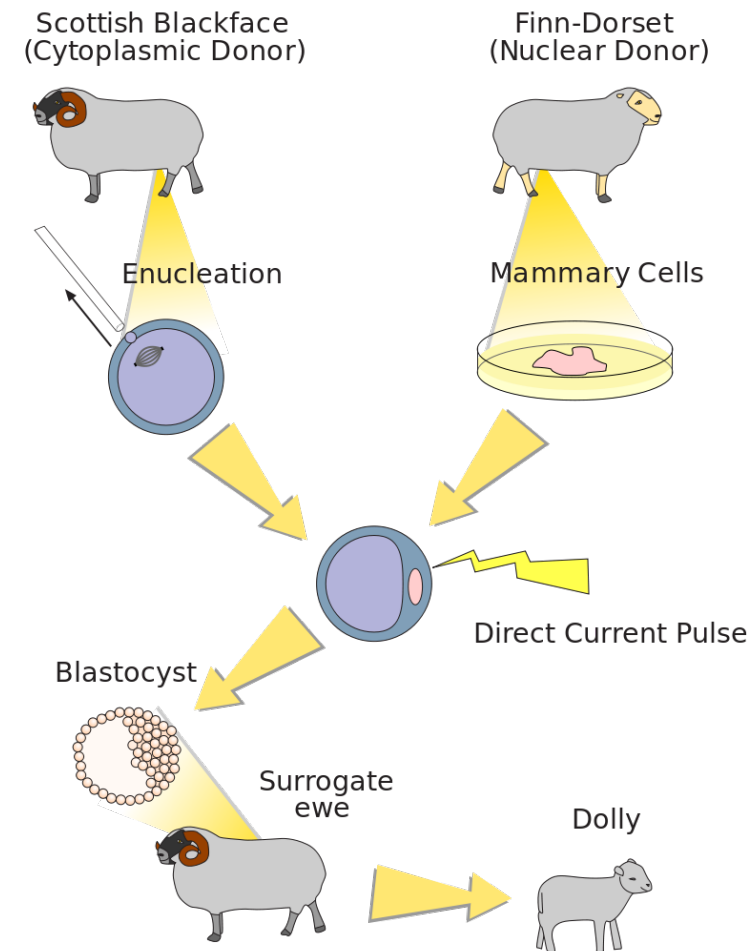




Τα διαφοροποιημένα κύτταρα έχουν όλες τις πληροφορίες για τη δημιουργία ολόκληρου οργανισμού



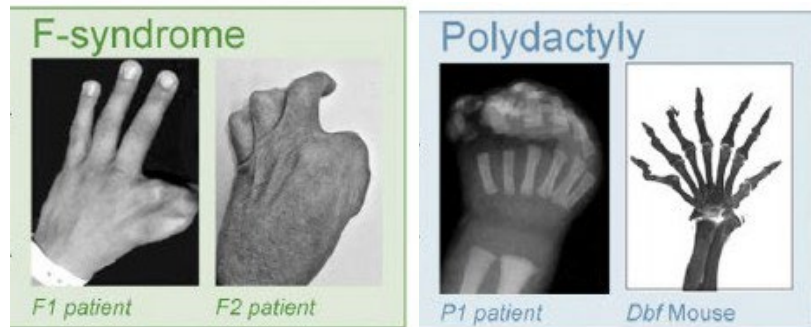
Αναπαραγωγική κλωνοποίηση...(1997)



Η ανάπτυξη επιτυγχάνεται με τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης



Η διαφορετική & ρυθμιζόμενη ενεργότητα των γονιδίων κατευθύνει την **ανάπτυξη** του οργανισμού
 Πρέπει να ρυθμίζεται **χωροχρονικά** αλλιώς μπορεί να οδηγήσει σε αναπτυξιακά προβλήματα
Συντηρημένα μονοπάτια ανάπτυξης και γονιδιακής ρύθμισης μεταξύ διαφόρων ειδών που είναι κοντά εξελικτικά

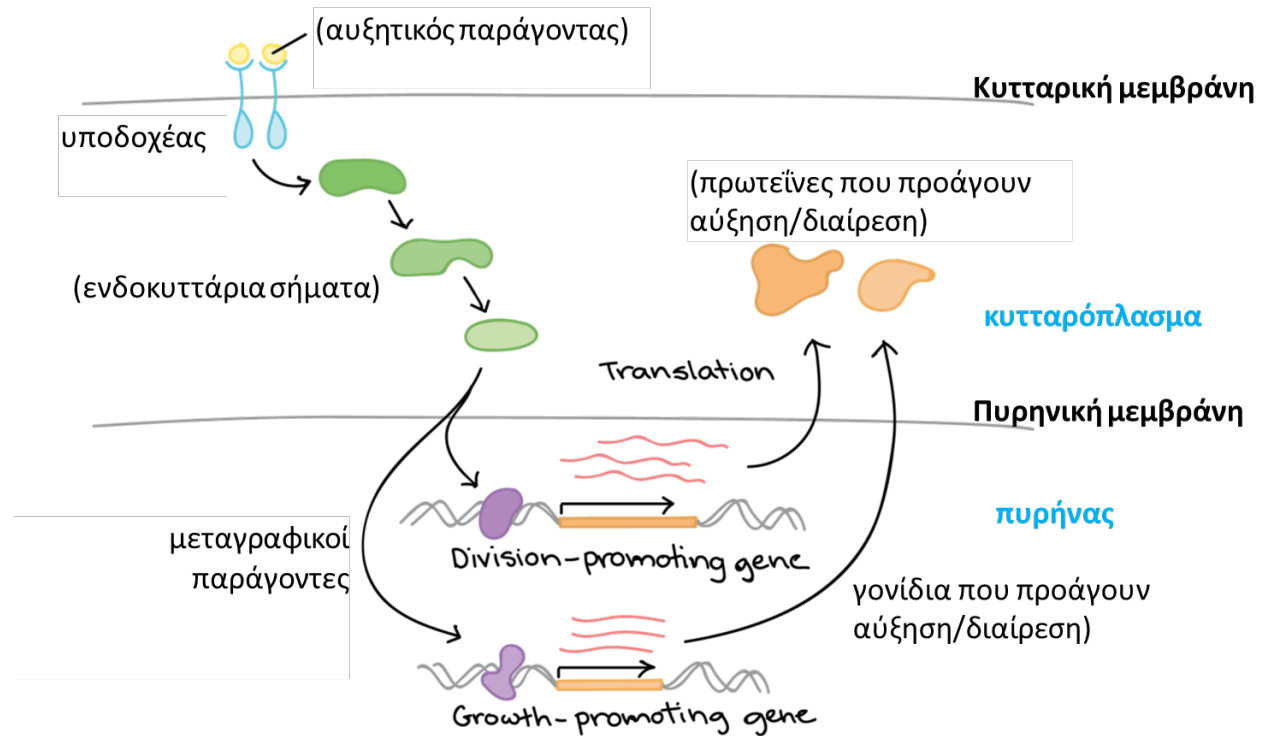


	ιχθύς	χελώνα	κοτόπουλο	χοίρος	άνθρωπος
Γονιμοποιημένο ωάριο					
Αναπτυσσόμενο έμβρυο					
Αναπτυσσόμενο έμβρυο					
Αναπτυσσόμενο έμβρυο					
Ενήλικο άτομο					

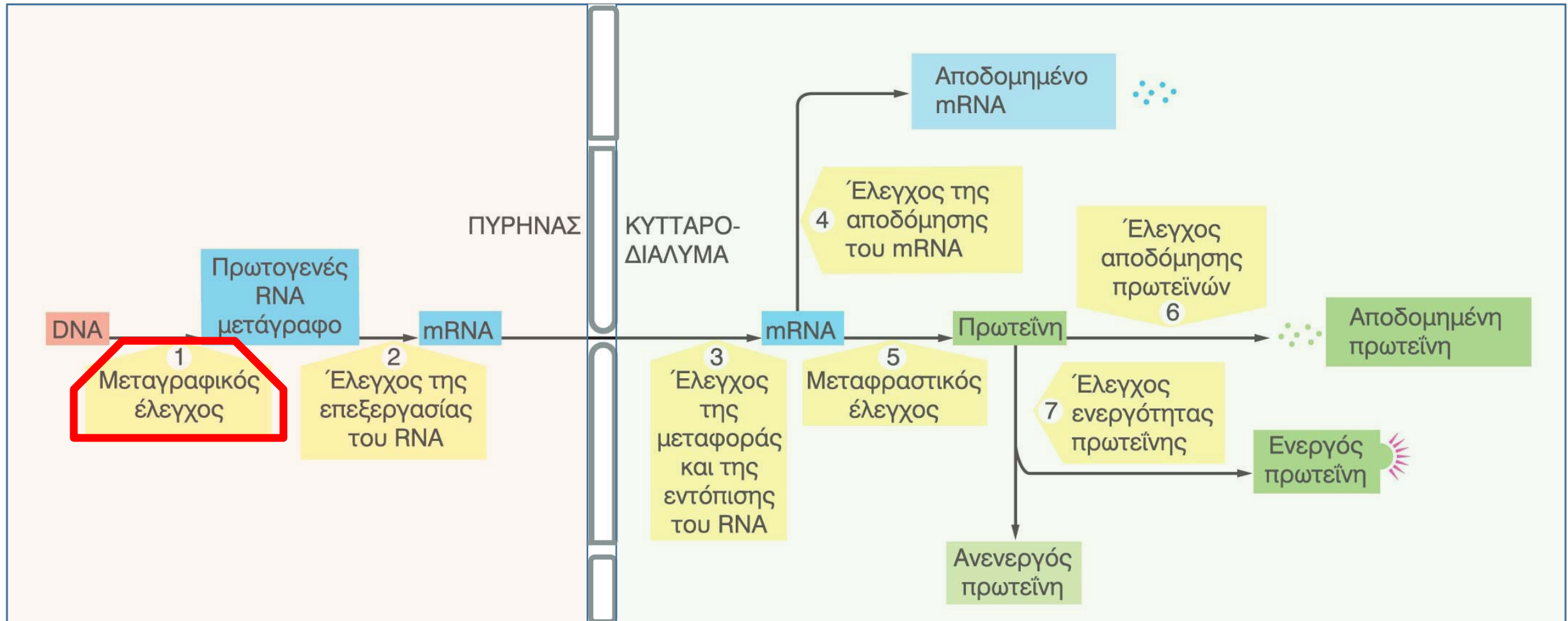
Αλλαγή έκφρασης γονιδίων υπό την επίδραση εξωγενών σημάτων



- Σε νηστεία ή μετά από έντονη σωματική άσκηση, όταν τα επίπεδα της γλυκόζης είναι χαμηλά στο αίμα, **γλυκοκορτικοειδή** απελευθερώνονται στο σώμα και δίνουν το σήμα στο ήπαρ να παράγουν γλυκόζη από αμινοξέα
- Η **ορμόνη** στα ηπατοκύτταρα αυξάνει την **έκφραση γονιδίων** που κωδικοποιούν ένζυμα για τη μετατροπή του αμινοξέος **τυροσίνη σε γλυκόζη** (π.χ. αμινοτρανσφεράση της τυροσίνης)
- Όταν η ορμόνη δεν είναι παρούσα η παραγωγή των πρωτεϊνών επανέρχεται σε κανονικά επίπεδα
- Σε παρουσία της ορμόνης στα λιποκύτταρα η παραγωγή της αμινοτρανσφεράσης της τυροσίνης ελαττώνεται ενώ άλλα κύτταρα δεν επηρεάζονται



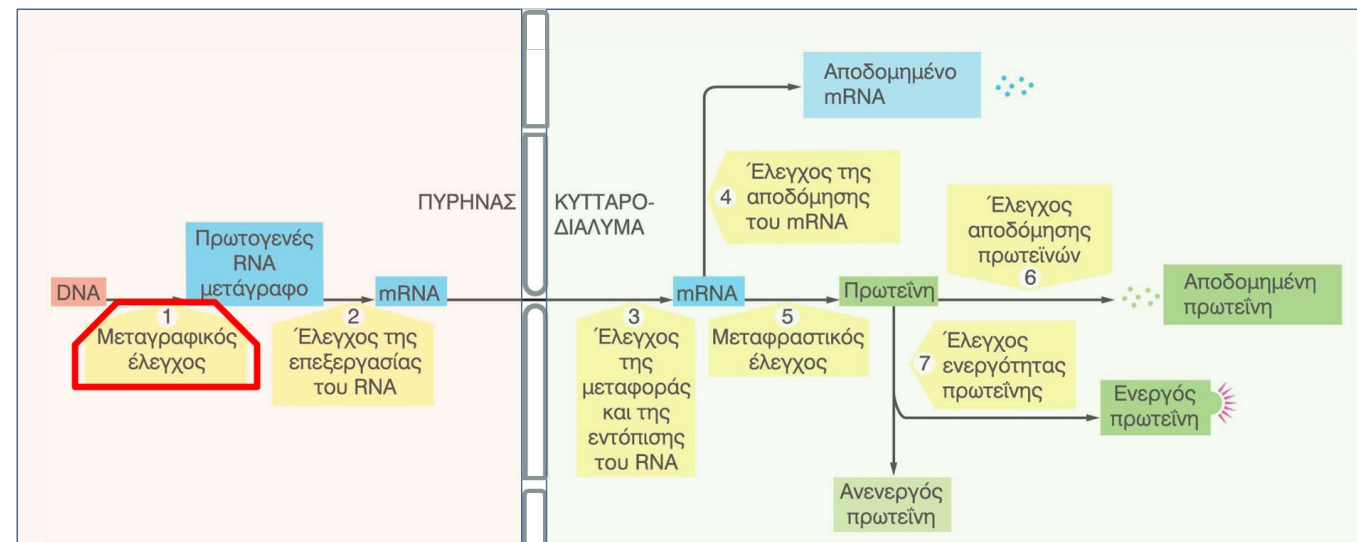
Η γονιδιακή έκφραση μπορεί να ρυθμιστεί σε πολλά σημεία κατά τη ροή της γενετικής πληροφορίας



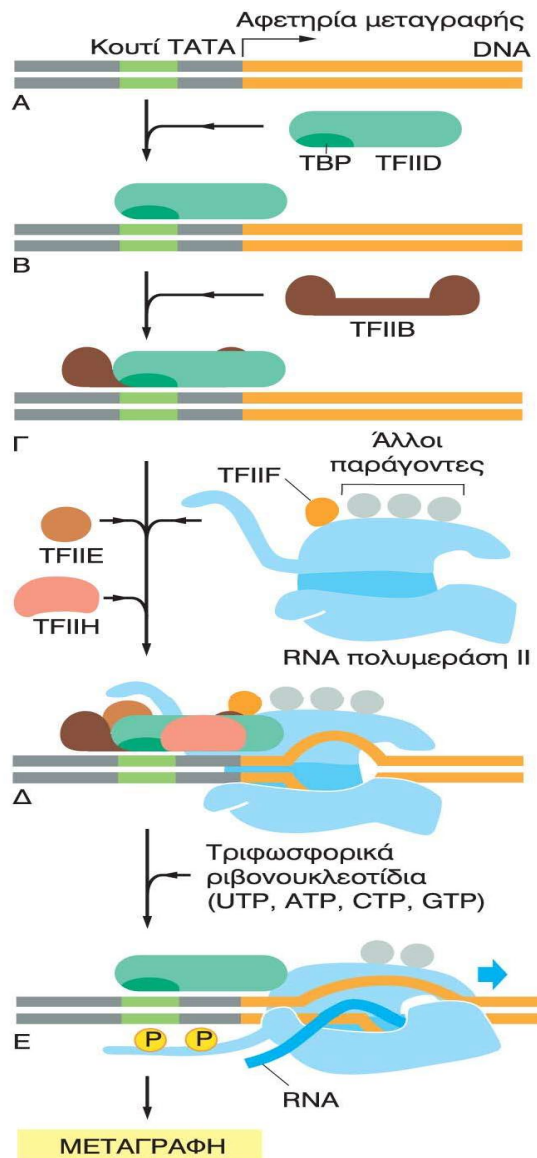
Η γονιδιακή έκφραση μπορεί να ρυθμιστεί σε πολλά σημεία κατά τη ροή της γενετικής πληροφορίας



1. Ρύθμιση του **που, πότε και πόσο συχνά** γίνεται η έναρξη της μεταγραφής
2. Ρύθμιση του τρόπου **επεξεργασίας του pre-mRNA** (εκτομή & συρραφή εξωνίων, 5' καλύπτρα, πολυ-A ουρά)
3. Επιλογή των ειδών mRNA που προορίζονται για μετάφραση (**μεταφορά στο κυτταρόπλασμα**)
4. Επιλεκτική **αποδόμηση** συγκεκριμένων μορίων mRNA
5. Επιλογή των πρωτεϊνών οι οποίες είναι **ενεργές, ανενεργές, αποικοδόμηση** πρωτεϊνών

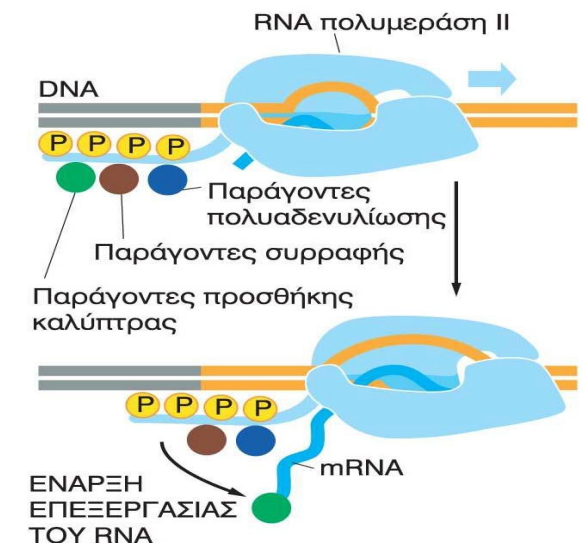


Η μεταγραφή ελέγχεται από την πρόσδεση της RNA πολυμεράσης και γενικών μεταγραφικών παραγόντων στον υποκινητή

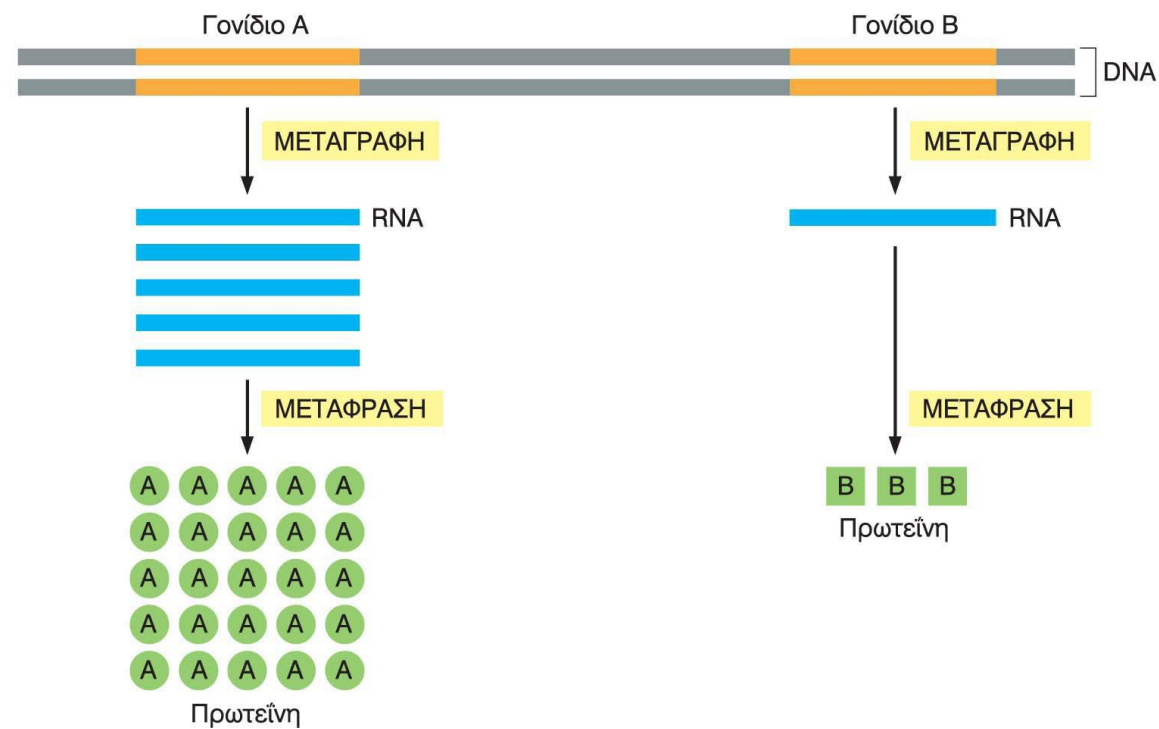


Η φωσφορυλίωση της «ουράς» της RNA Pol II γίνεται από μια υπομονάδα (πρωτεϊνική κινάση) του **TFIIH** & συνεπάγεται:

1. Απεμπλοκή της RNA Pol II από το σύμπλοκο των ΓΜΠ
2. Έναρξη μεταγραφής και επιμήκυνση
3. Προσθήκη πρωτεϊνών που επεξεργάζονται το νεοσυντιθέμενο RNA (ωρίμανση RNA: προστασία του 5' άκρου, συναρμογή εξονίων, επεξεργασία του 3' άκρου/πολυαδενυλίωση)



Πρώτο επίπεδο ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης



Που, πότε και πόσο συχνά γίνεται η **έναρξη** της μεταγραφής?



Που, πότε και πόσο συχνά η RNA πολυμεράση και οι GMT προσδένονται στον υποκινητή

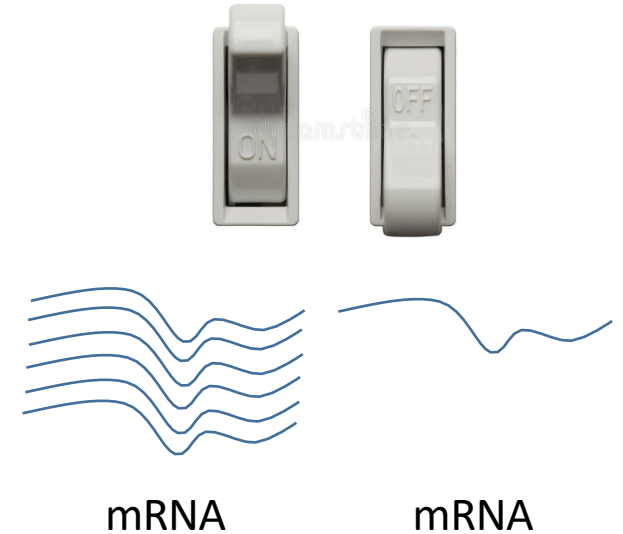
Η μεταγραφή ελέγχεται από πρωτεΐνες που προσδένονται σε ρυθμιστικές αλληλουχίες

Cis ρυθμιστική αλληλουχία



Cis ρυθμιστικές αλληλουχίες του γονιδίου (DNA):

- Βραχείες **αλληλουχίες DNA** που βρίσκονται στο ίδιο χρωμόσωμα και μπορεί να βρίσκονται κοντά ή μακριά από το γονίδιο
- Αναγνωρίζονται από τις **ρυθμιστικές πρωτεΐνες**
- Είναι απαραίτητα στοιχεία για την ενεργοποίηση ή απενεργοποίηση του γονιδίου



Μεταγραφικοί ρυθμιστές (transcription regulators): πρωτεΐνες που ελέγχουν την έκφραση των γονιδίων στο επίπεδο της μεταγραφής (προσδένονται σε ρυθμιστικές αλληλουχίες του)

Βακτήρια: 100άδες
Άνθρωπο: 1000άδες

«Μοριακός διακόπτης» που ελέγχει την έκφραση γονιδίων

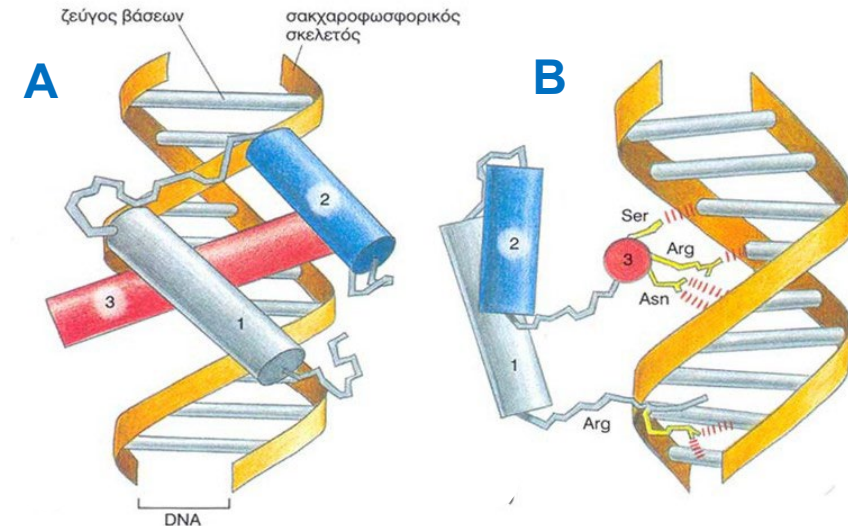
Μεταγραφικοί ρυθμιστές έχουν σταθερά πρωτεϊνικά μοτίβα πρόσδεσης στο DNA



- Κάθε περίπτωση αλληλεπίδρασης DNA-πρωτεΐνης είναι μοναδική ως προς της λεπτομέρειές της
- Συνδέονται στο DNA με δεσμούς υδρογόνου, ιοντικούς δεσμούς και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις
- Πολλές από αυτές έχουν κάποιο από τα εξαιρετικά σταθερά πρωτεϊνικά πρότυπα πτύχωσης

A, B: «Ομοιοτική περιοχή» (homeodomain) ρυθμιστικής πρωτεΐνης

- 3 α-έλικες (μορφή κυλίνδρων)
- Οι περισσότερες επαφές με DNA από #3 (ασπαραγίνη με A)



Γ: «Δάκτυλος ψευδαργύρου» (zinc finger)

- Μια α-έλικα και ένα β πτυχωτό φύλο-συγκρατούνται από ένα μόριο ψευδαργύρου
- Συχνά σε συσσωματώματα που συνδέονται ομοιοπολικά ώστε η α-έλικα του κάθε δακτύλου (3 στην εικόνα) να έρχεται σε επαφή με τη μείζονα αύλακα του DNA

Δ: «Φερμουάρ λευκίνης» (leucine zipper)

- δύο α-έλικες από διαφορετικά πρωτεϊνικά μόρια
- Στο DNA ως διμερή, σα μανταλάκια σε σχοινί

Σύνοψη I

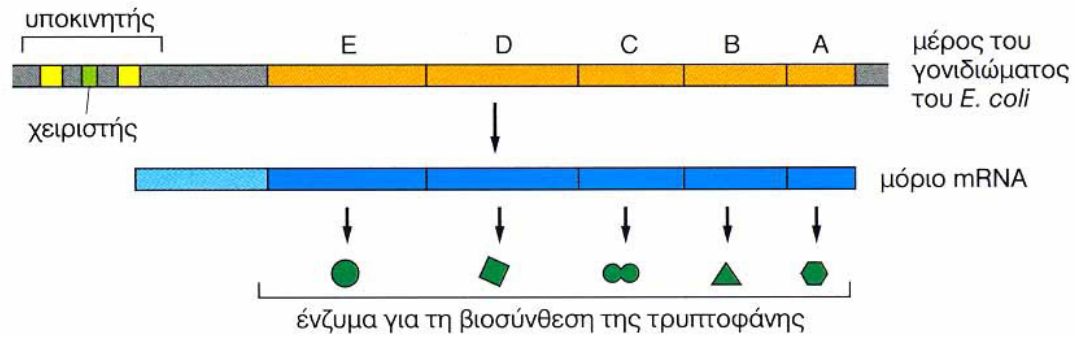


- Ένα τυπικό ευκαρυωτικό κύτταρο εκφράζει μόνο ένα ποσοστό των γονιδίων του. Οι διαφορές ανάμεσα στους κυτταρικούς τύπους των πολυκύτταρων οργανισμών προκύπτουν από τη διαφορική έκφραση ομάδων γονιδίων καθώς τα κύτταρα διαφοροποιούνται.
- Οι διάφοροι κυτταρικού τύποι έχουν ίδιο DNA, αλλά διαφορετικά RNAs & πρωτεΐνες
- Θεωρητικά, η έκφραση των γονιδίων ελέγχεται σε οποιοδήποτε στάδιο μεταξύ του γονιδίου και του τελικού λειτουργικού προϊόντος του. Ωστόσο, για την πλειονότητα των γονιδίων, η έναρξη της μεταγραφής είναι το σημαντικότερο σημείο ελέγχου.
- Η μεταγραφή ενός γονιδίου ενεργοποιείται και καταστέλλεται από ειδικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες, τους μεταγραφικούς ρυθμιστές, που ασκούν τη δράση τους μέσω πρόσβασης σε μικρά τμήματα DNA τα οποία καλούνται ρυθμιστικές αλληλουχίες DNA.

Το οπερόνιο της τρυπτοφάνης ελέγχεται από έναν καταστολέα



Το οπερόνιο βιοσύνθεσης της τρυπτοφάνης

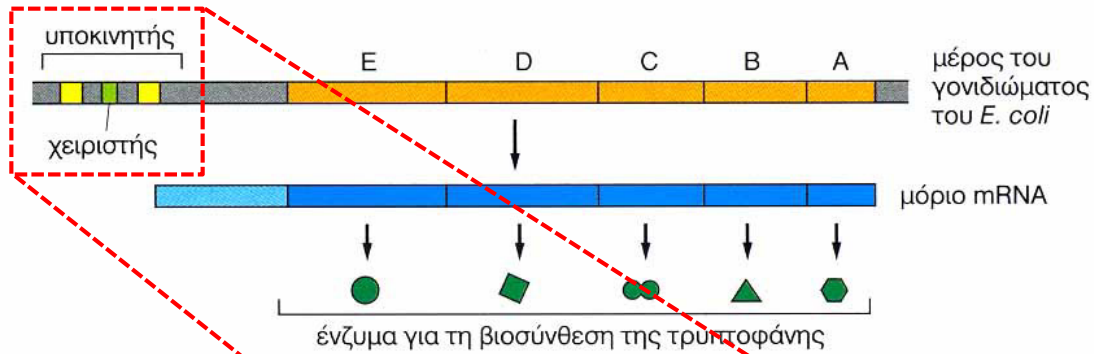


Οπερόνιο: περιοχή του βακτηριακού DNA που περιλαμβάνει περισσότερα του ενός γονίδια. Τα γονίδια ενός οπερονίου είναι διατεταγμένα στη σειρά, ρυθμίζονται από έναν υποκινητή & κωδικοποιούν πρωτεΐνες που συμβάλουν σε μια λειτουργία, π.χ. μια μεταβολική οδό

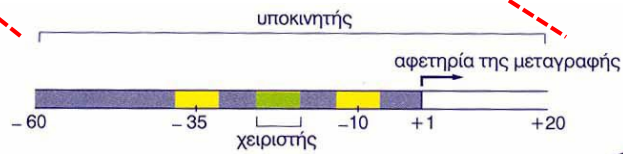
Το οπερόνιο της τρυπτοφάνης ελέγχεται από έναν καταστολέα



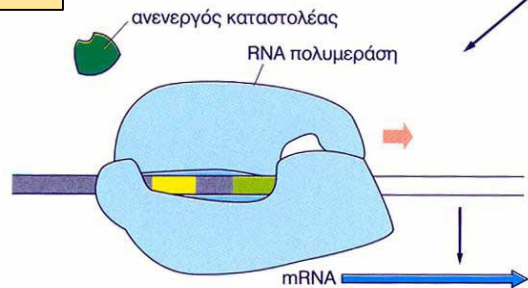
Το οπερόνιο βιοσύνθεσης της τρυπτοφάνης



Οπερόνιο: περιοχή του βακτηριακού DNA που περιλαμβάνει περισσότερα του ενός γονίδια. Τα γονίδια ενός οπερονίου είναι διατεταγμένα στη σειρά, ρυθμίζονται από έναν υποκινητή & κωδικοποιούν πρωτεΐνες που συμβάλουν σε μια λειτουργία, π.χ. μια μεταβολική οδό

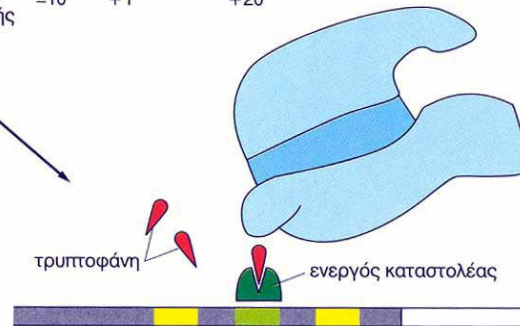


Χαμηλή τρυπτοφάνη



ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

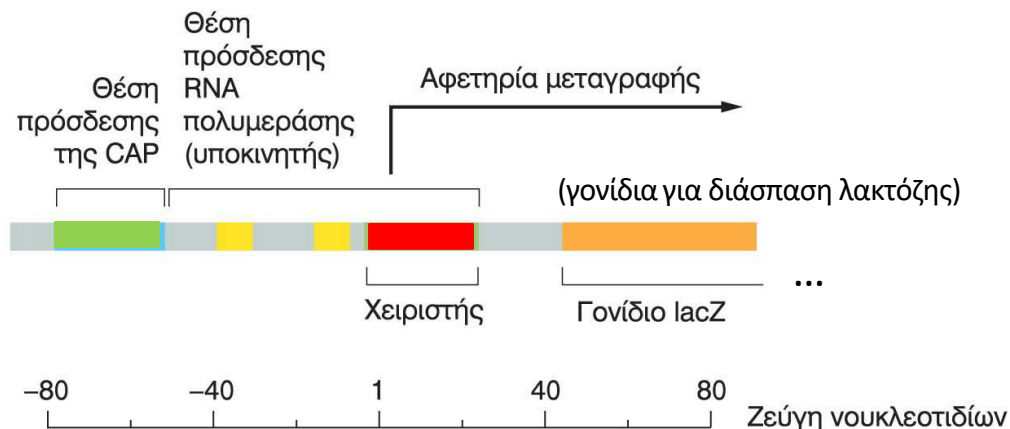
Υψηλή τρυπτοφάνη



ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΝ



Το οπερόνιο της λακτόζης ελέγχεται από έναν ενεργοποιητή και έναν καταστολέα



- Κωδικοποιεί για ένζυμα της εισαγωγής & διάσπασης του δισακχαρίτη λακτόζη
- Ενεργοποιείται μόνον από την έλλειψη (-) γλυκόζης & παρουσία (+) λακτόζης

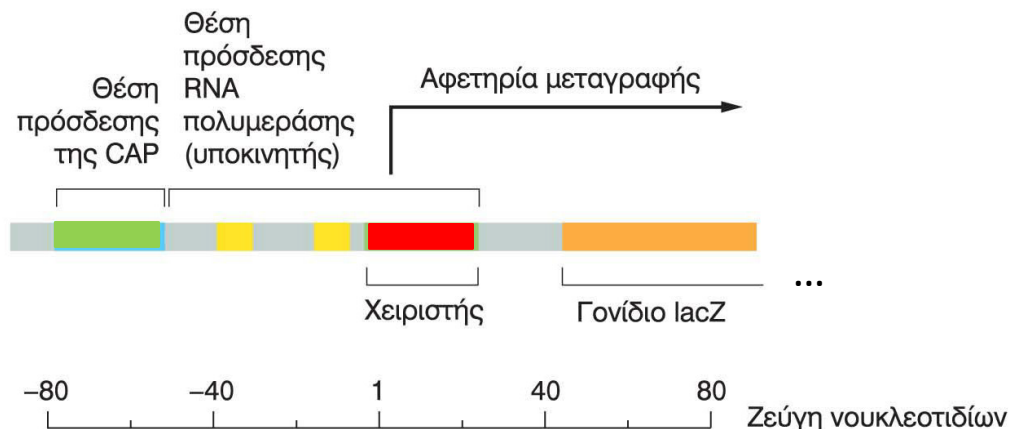
CAP (Ενεργοποιητής)

Lac (Καταστολέας)

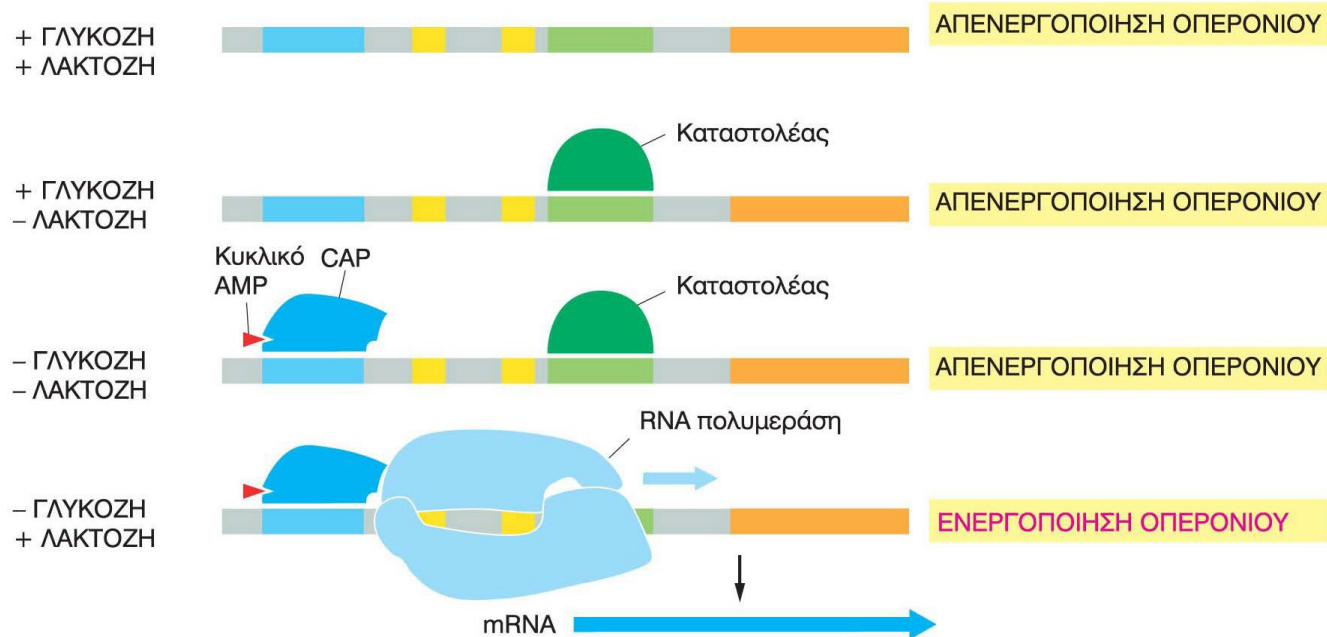
Jacob & Monod; 1965 Nobel award in Medicine and Physiology



Το οπερόνιο της λακτόζης ελέγχεται από έναν ενεργοποιητή και έναν καταστολέα



- Κωδικοποιεί για ένζυμα της εισαγωγής & διάσπασης του δισακχαρίτη λακτόζη
- Ενεργοποιείται μόνον από την έλλειψη (-) γλυκόζης & παρουσία (+) λακτόζης



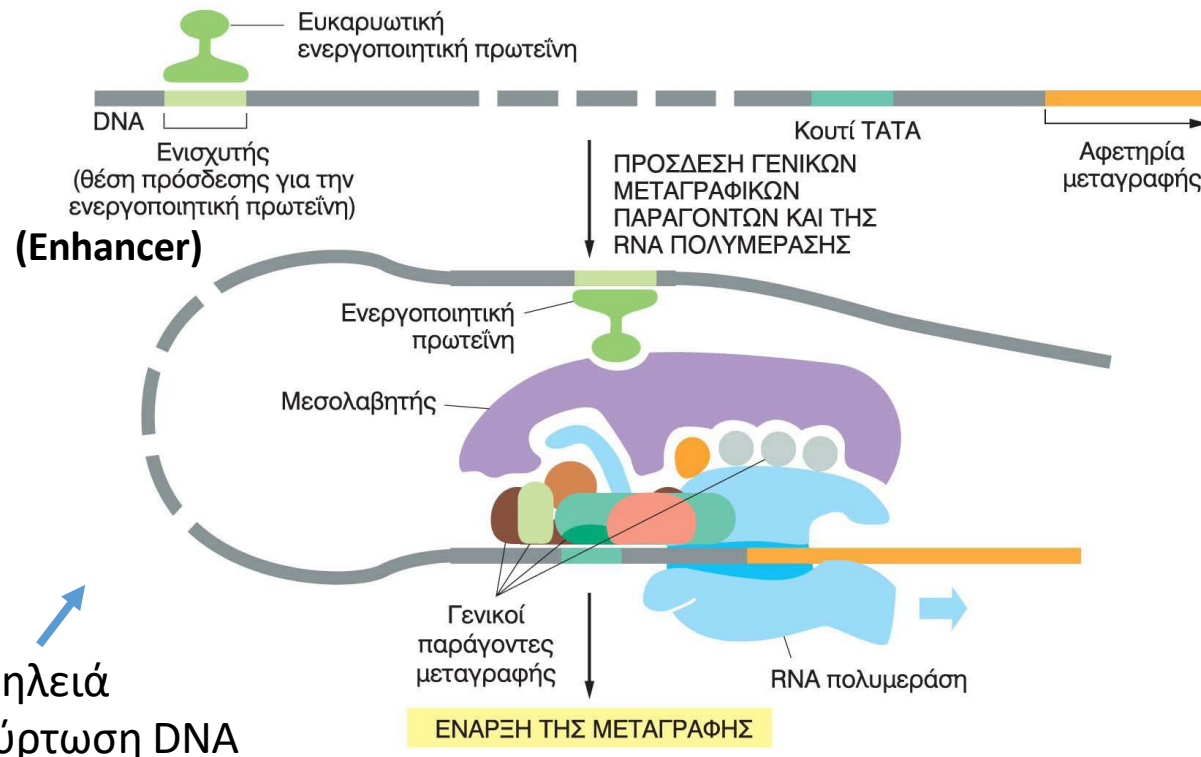
Jacob & Monod; 1965 Nobel award in Medicine and Physiology



Ευκαρυώτες: ενεργοποίηση της έναρξης της μεταγραφής από απόσταση

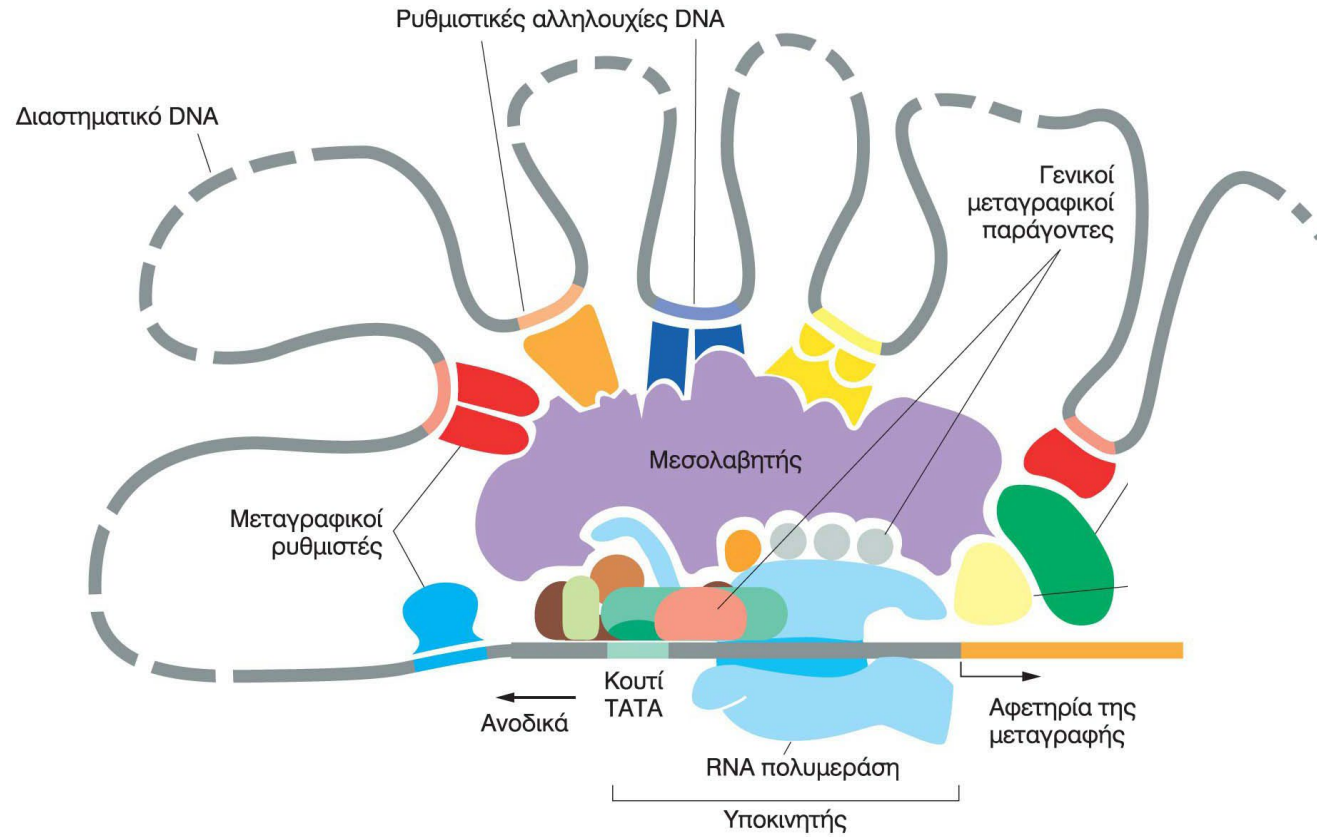


- Υπάρχουν μεταγραφικοί ρυθμιστές στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς (**ενεργοποιητές/καταστολείς**)
- Οι θέσεις στο DNA που προσδένονται ονομάστηκαν **ενισχυτές (enhancers)**
- Βρίσκονται λίγα νουκλεοτίδια έως και χιλιάδες βάσεις πιο πάνω ή και πιο κάτω από το γονίδιο που ρυθμίζουν
- Το DNA που παρεμβάλλεται μεταξύ του **υποκινητή (promoter)** και του **ενισχυτή (enhancer)** μπορεί να διαμορφώνεται σε έναν **βρόχο (θηλειά, loop)**.
- Μπορεί να είναι **γενικοί, κυτταρο/ιστοειδικοί (cell/tissue-specific)** ή ειδικοί για συγκεκριμένο αναπτυξιακό στάδιο



- Η θηλειά φέρνει μαζί τους **γενικούς μεταγραφικούς παράγοντες** και την RNA pol II που βρίσκονται στον **υποκινητή** με πρωτεΐνες του **ενισχυτή**.
- Επικουρικές πρωτεΐνες διαμεσολαβούν την αλληλεπίδραση-αποτελούν ένα συμπλοκο που λέγεται **μεσολαβητής (mediator)**
- Τρόπος δράσης πρωτεΐνων ενισχυτή: **υποβοήθηση (ενεργοποιητές)** ή **παρεμπόδιση (καταστολείς)** της συναρμολόγησης των ΓΜΠ και της RNA pol II στον υποκινητή.

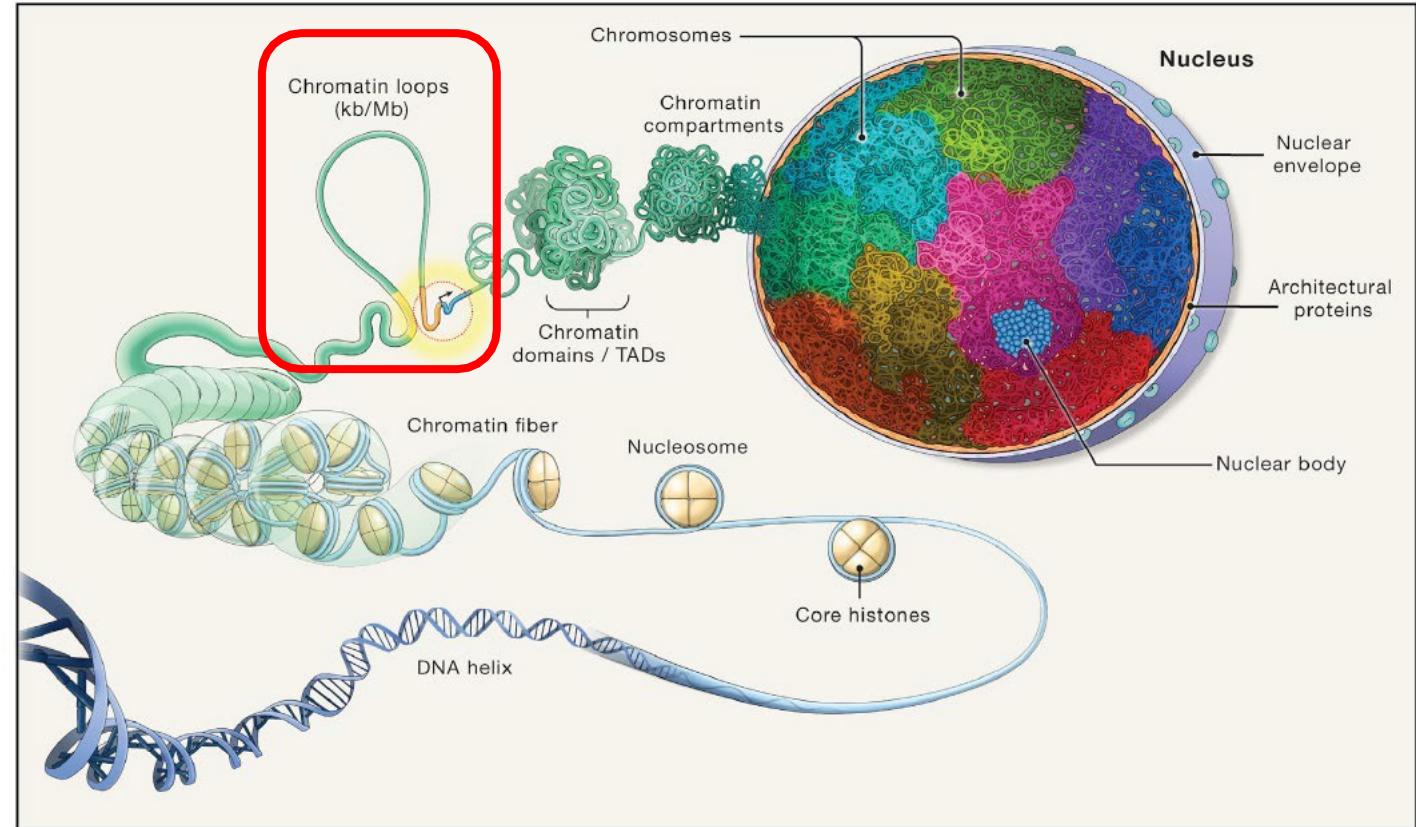
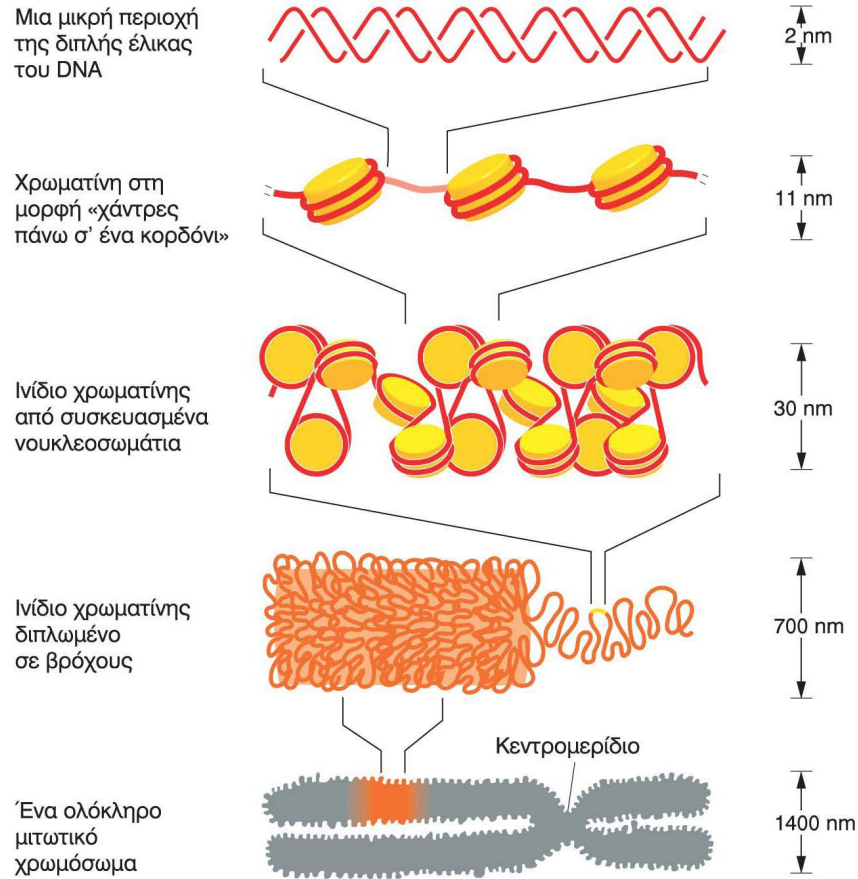
Τα ευκαρυωτικά γονίδια ρυθμίζονται από ομάδες και συνδυασμούς ρυθμιστικών πρωτεϊνών (συνδυαστικός έλεγχος)



Η **συνδυαστική δράση** των ρυθμιστικών πρωτεϊνών εξασφαλίζει την έκφραση του γονιδίου υπό **συγκεκριμένες συνθήκες**, στην **κατάλληλη χρονική στιγμή & ενεργότητα**, στο κατάλληλο κύτταρο :

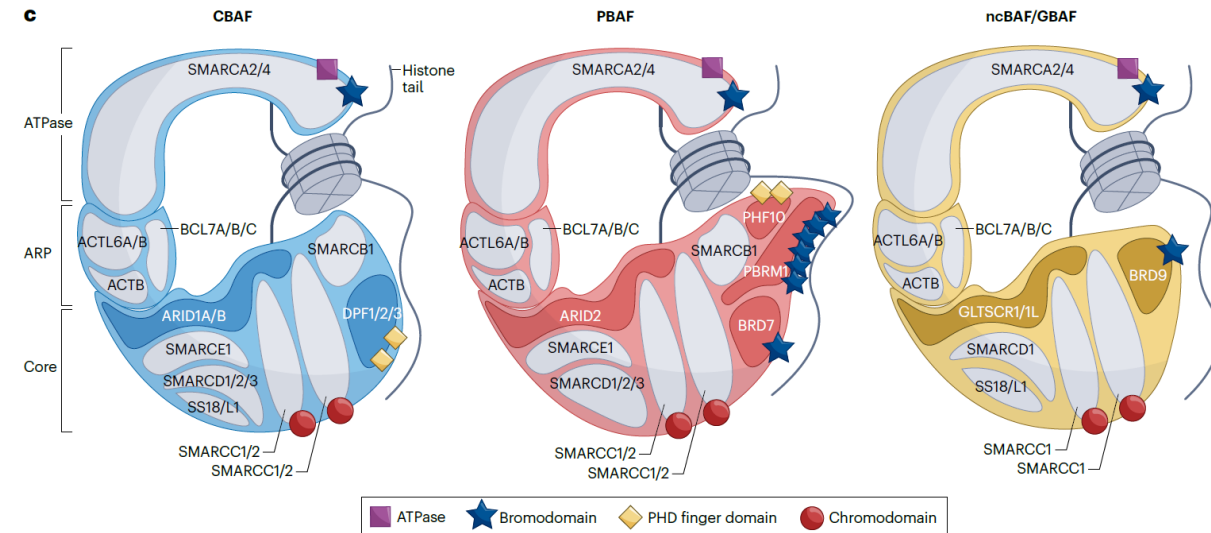
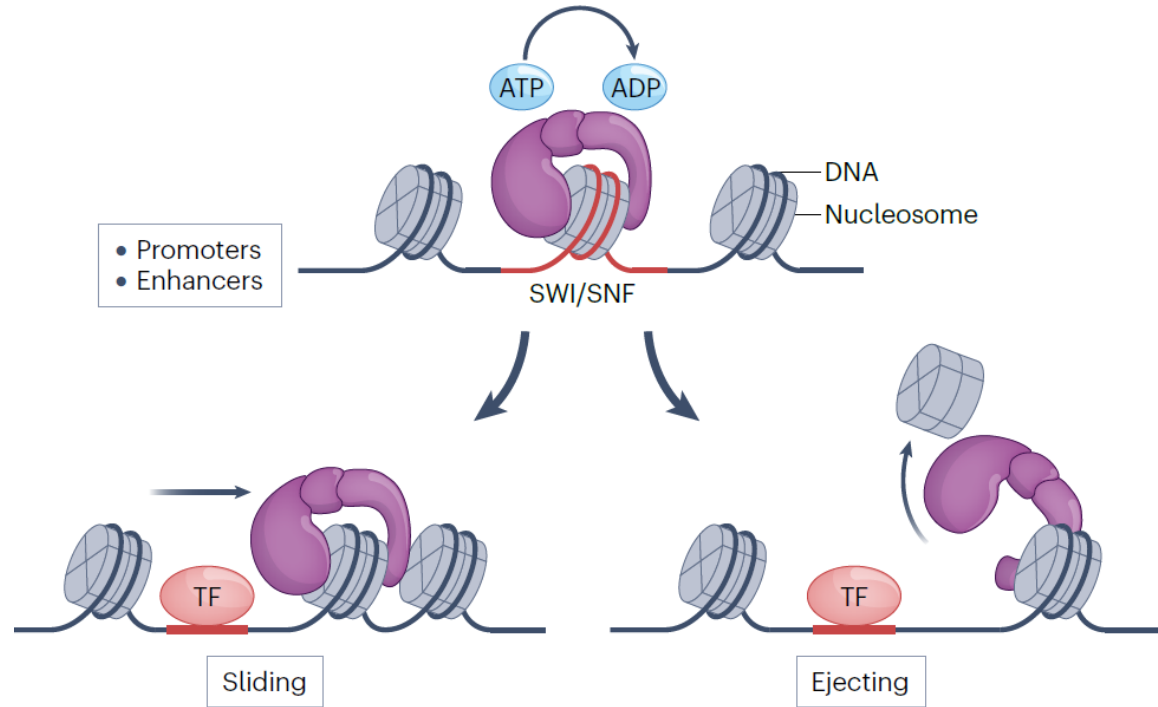
συνδυαστικός έλεγχος/ρύθμιση
(combinatorial control)

Το ευκαρυωτικό DNA οργανώνεται σε πολλά διαφορετικά επίπεδα

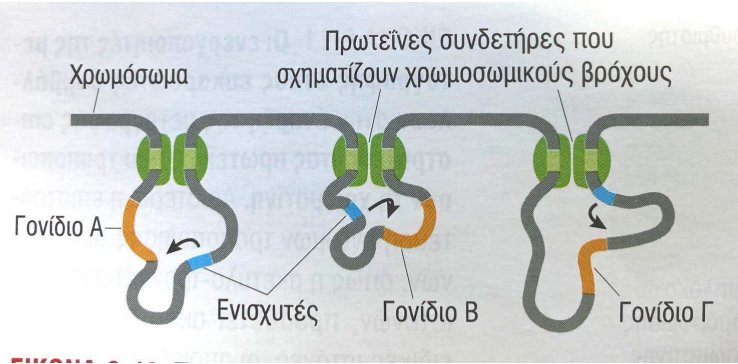


ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ: ΚΑΘΕ ΜΟΡΙΟ DNA ΕΧΕΙ ΣΥΣΚΕΥΑΣΤΕΙ Σ' ΕΝΑ ΜΙΤΩΤΙΚΟ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑ ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΙΝΑΙ 10.000 ΦΟΡΕΣ ΒΡΑΧΥΤΕΡΟ ΑΠΟ ΤΟ ΜΟΡΙΟ ΤΟΥ DNA ΑΝ ΗΤΑΝ ΠΛΗΡΩΣ ΕΚΤΕΤΑΜΕΝΟ

Οι ενεργοποιητές της μεταγραφής επιστρατεύουν πρωτεΐνες που τροποποιούν την χρωματίνη



Η οργάνωση του γονιδιώματος μπορεί να ρυθμίζει αλληλεπιδράσεις μεταξύ υποκινητών γονιδίων και ενισχυτών

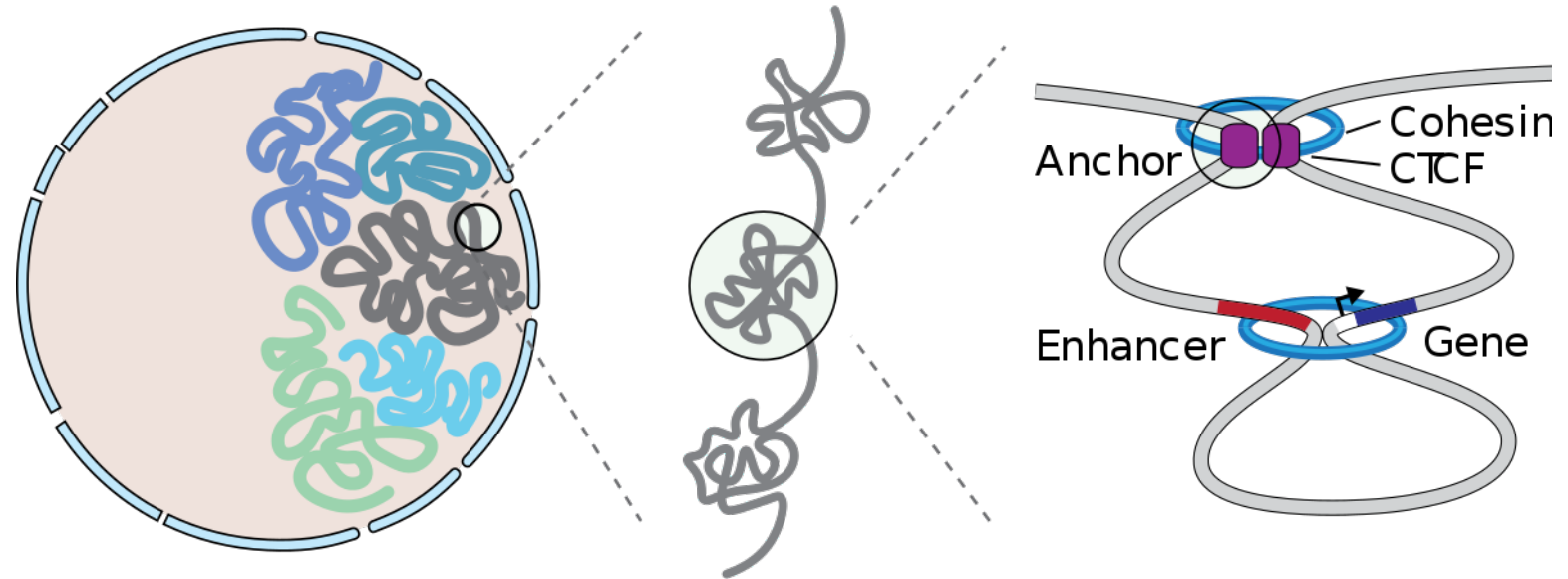


Τοπολογικά σχετιζόμενες περιοχές

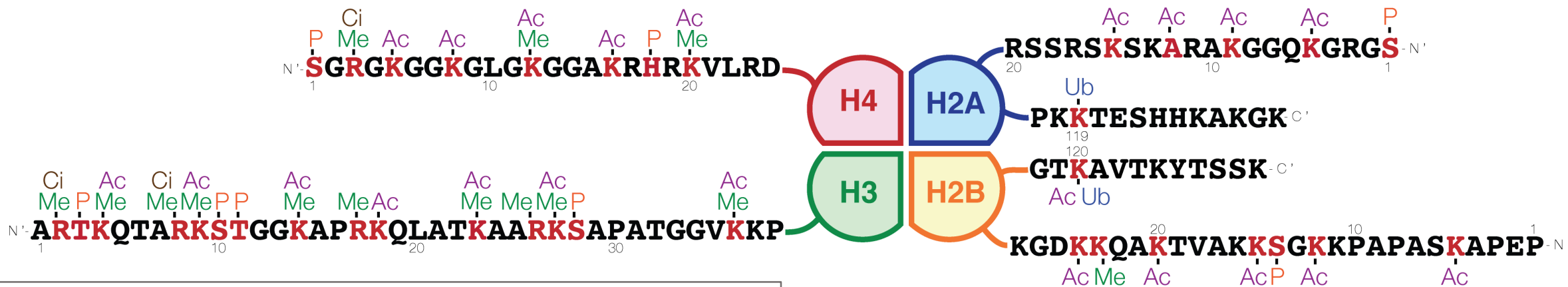
Chromosome territory

Topologically Associating Domain (TAD)

Insulated neighborhood



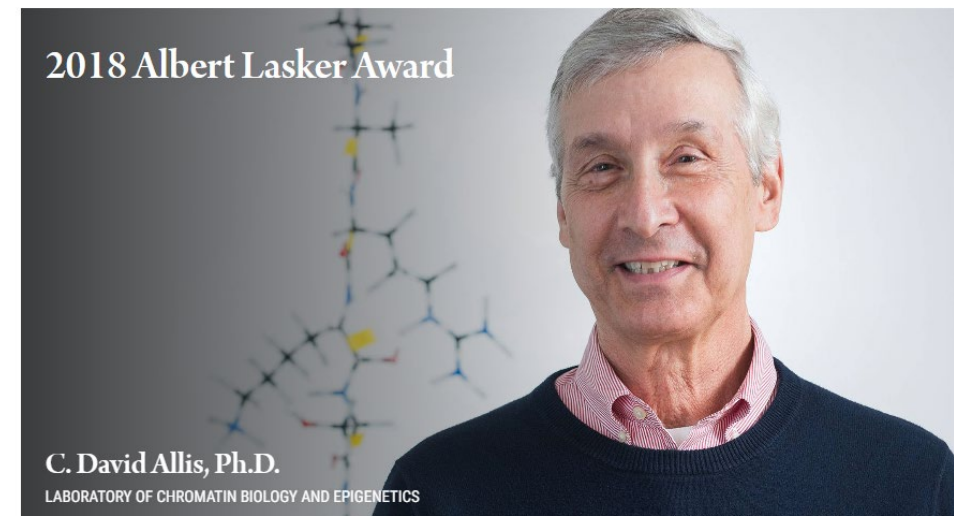
Κώδικας των ιστονών: ακόμα ένα επίπεδο ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης



Me	Methylation	Ac	Acetylation	Ci	Citrullination
Ub	Ubiquitination	P	Phosphorylation		

Based on Rodriguez-Paredes and Esteller, *Nature*, 2011

Λυσίνες (K): ακετυλίωση, μεθυλίωση
Αργινίνες (R): μεθυλίωση, κιτρουλινίωση
Σερίνες, θρεονίνες, τυροσίνες (S,T,Y): φωσφορυλίωση



Η ακετυλίωση των ιστονών οδηγεί σε λιγότερο συμπαγή δομή χρωματίνης



Λιγότερο συμπαγής (χαλαρή) δομή χρωματίνης (open/relaxed chromatin)



Πιο προσβάσιμος υποκινητής για ΓΜΠ+RNA πολυμεράση

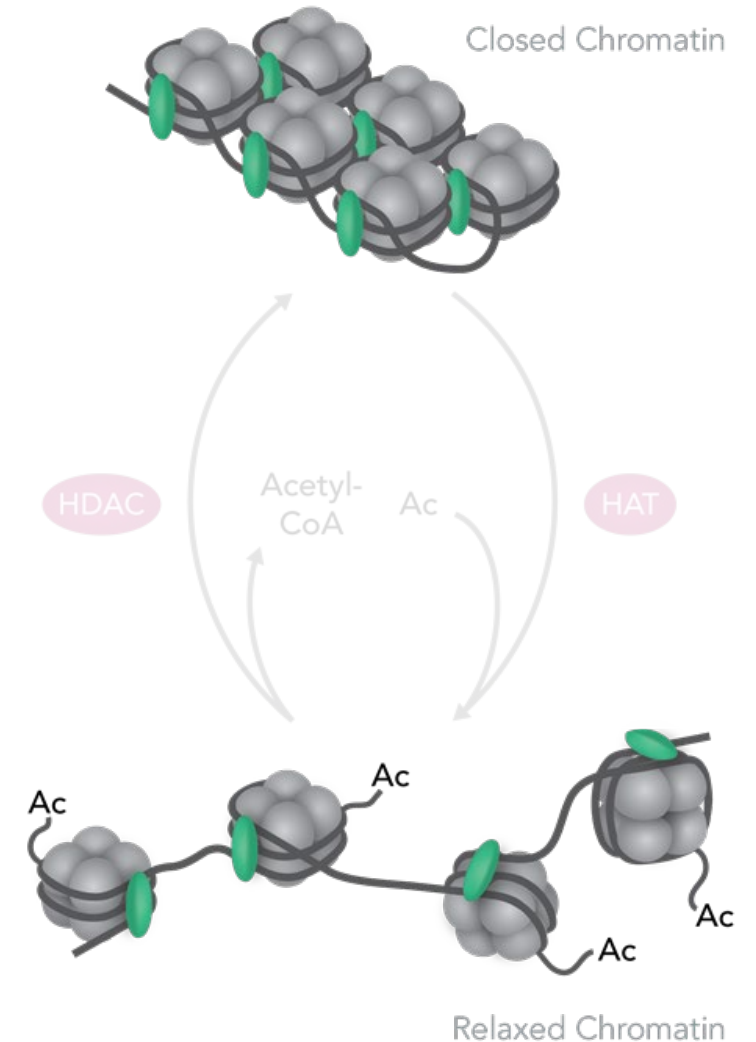


Αύξηση μεταγραφής γονιδίου

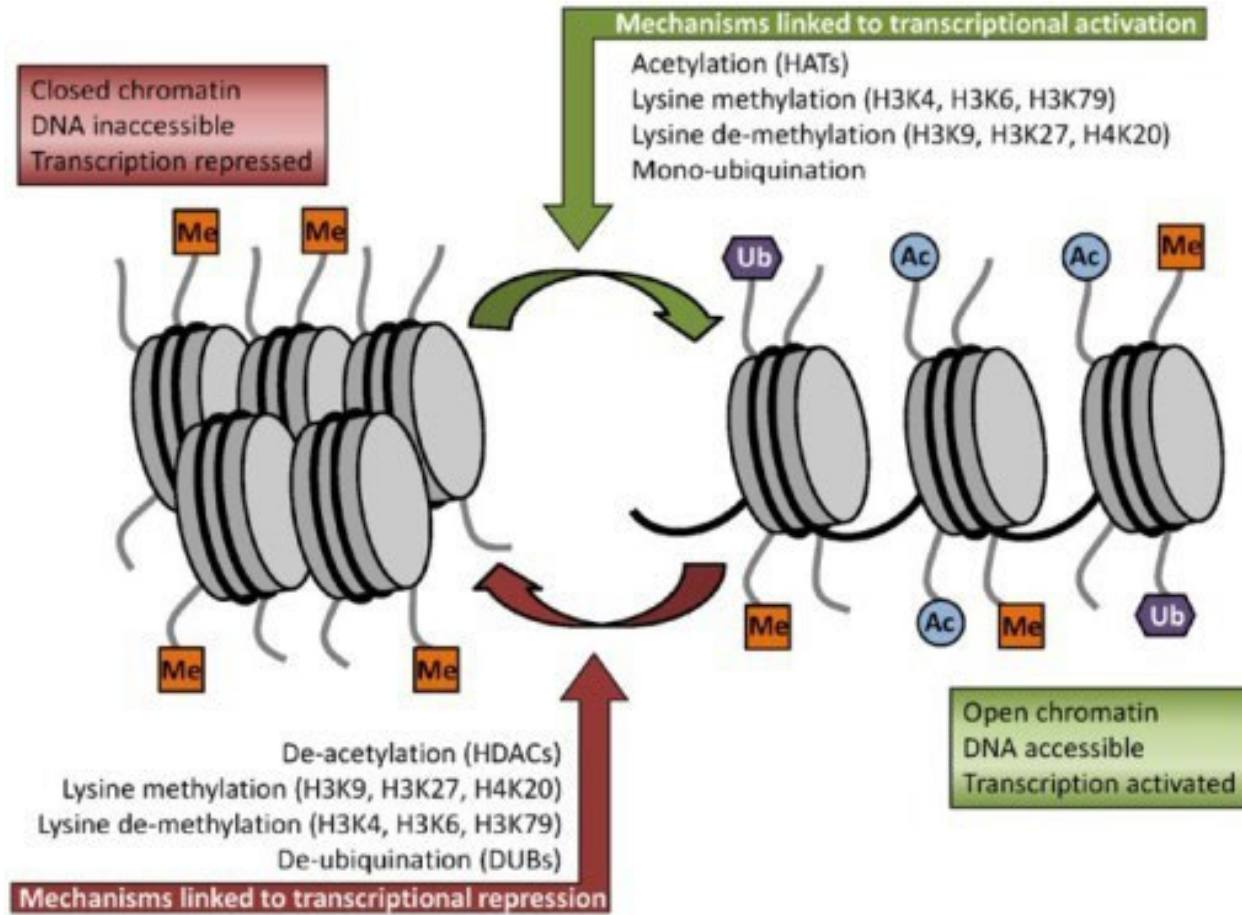
DNA: (-) αρνητικά φορτισμένο λόγω φωσφορικών ομάδων

Ιστόνες: (+) θετικά φορτισμένες λόγω πολλών λυσινών (+) στην ουρά τους

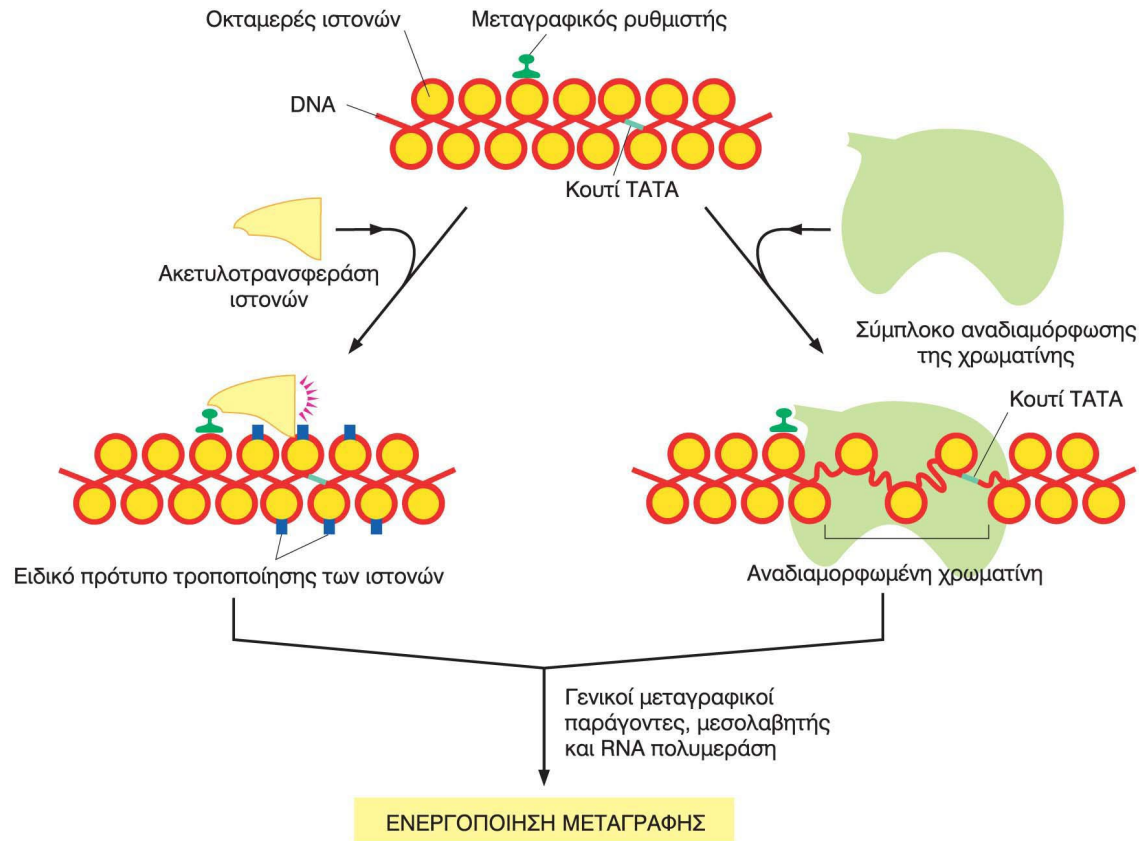
Η ακετυλίωση μετατρέπει το θετικά φορτισμένο φορτίο των λυσινών στην ουρά των ιστονών σε ουδέτερο με αποτέλεσμα να μειώνεται η έλξη μεταξύ ιστονών και DNA



Διαφορετικές τροποποιήσεις των ιστονών έχουν διαφορετικό αποτέλεσμα ρύθμισης



Η οργάνωση του υποκινητή σε νουκλεοσώματα μπορεί να επηρεάσει τη δυνατότητα μεταγραφής του



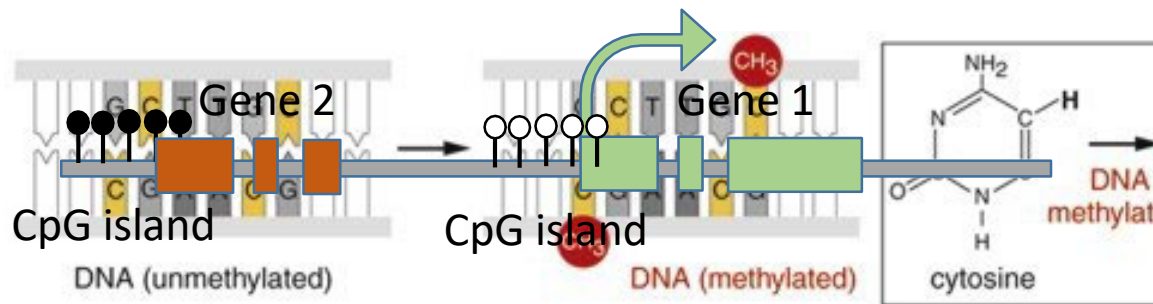
Ο μεταγραφικός **ενεργοποιητής** συμβάλλει στη δημιουργία τοπικών αλλαγών στη δομή της χρωματίνης ώστε ο υποκινητής να γίνει προσβάσιμος στους ΓΜΠ και τη RNA Pol II

- Ένας μεταγραφικός **ενεργοποιητής** μπορεί να στρατολογήσει **ακετυλάσες** (ακετυλ-τρανσφεράσες) **των ιστονών** (Histone acetyl transferases-HAT) ή **πρωτεϊνικά σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης**
- Ένας μεταγραφικός **καταστολέας** μπορεί να στρατολογήσει **απο-ακετυλάσες των ιστονών** και να καταστήσει λιγότερο προσβάσιμα ένα ή περισσότερα γειτονικά γονίδια (μεγάλα τμήματα συμπυκνωμένης χρωματίνης: ετεροχρωματινικές χρωμοσωματικές περιοχές)

Η μεθυλίωση του DNA προκαλεί καταστολή της γονιδιακής έκφρασης

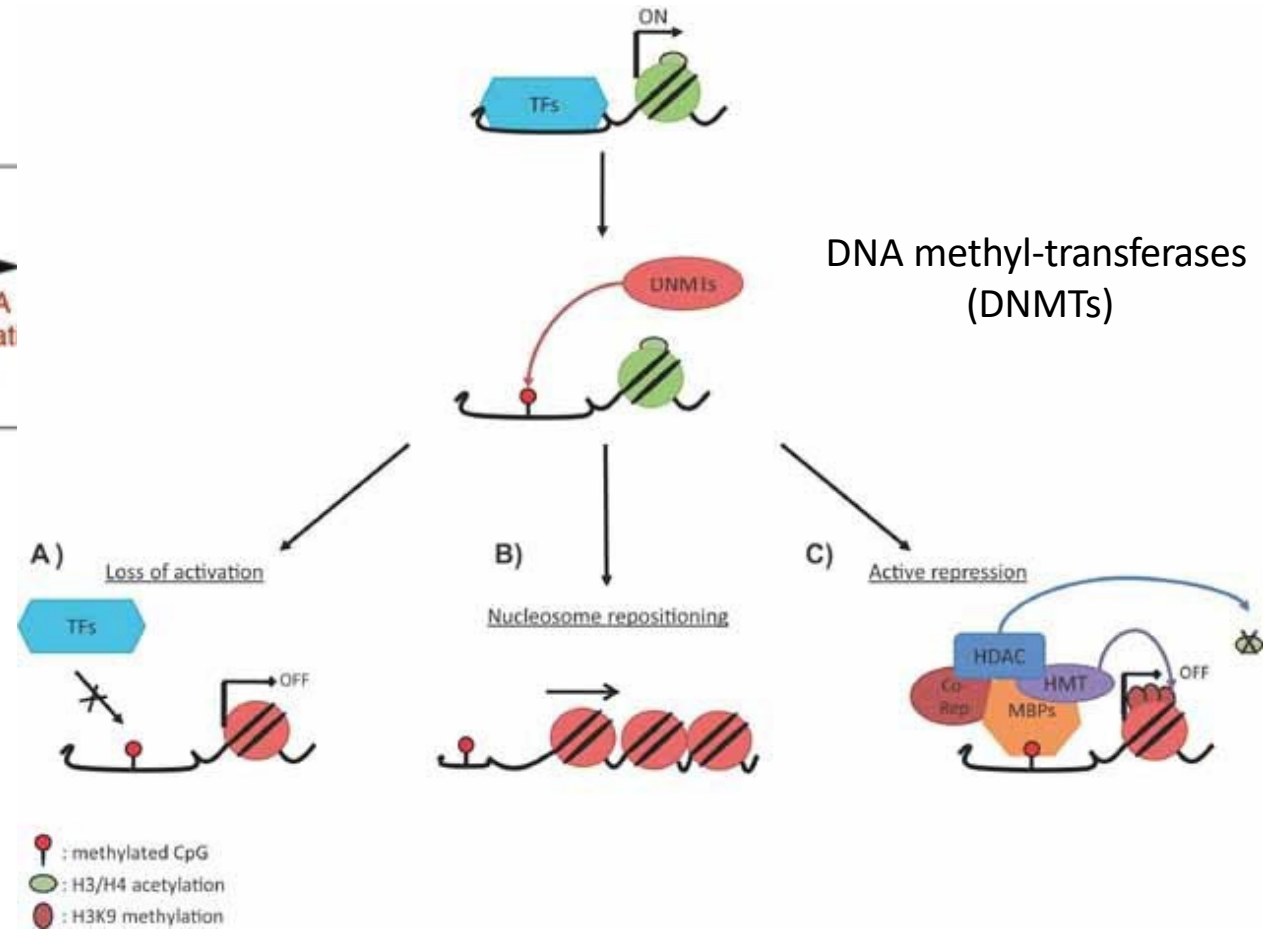


DNA μεθυλίωση σε ευκαρυωτικά κύτταρα

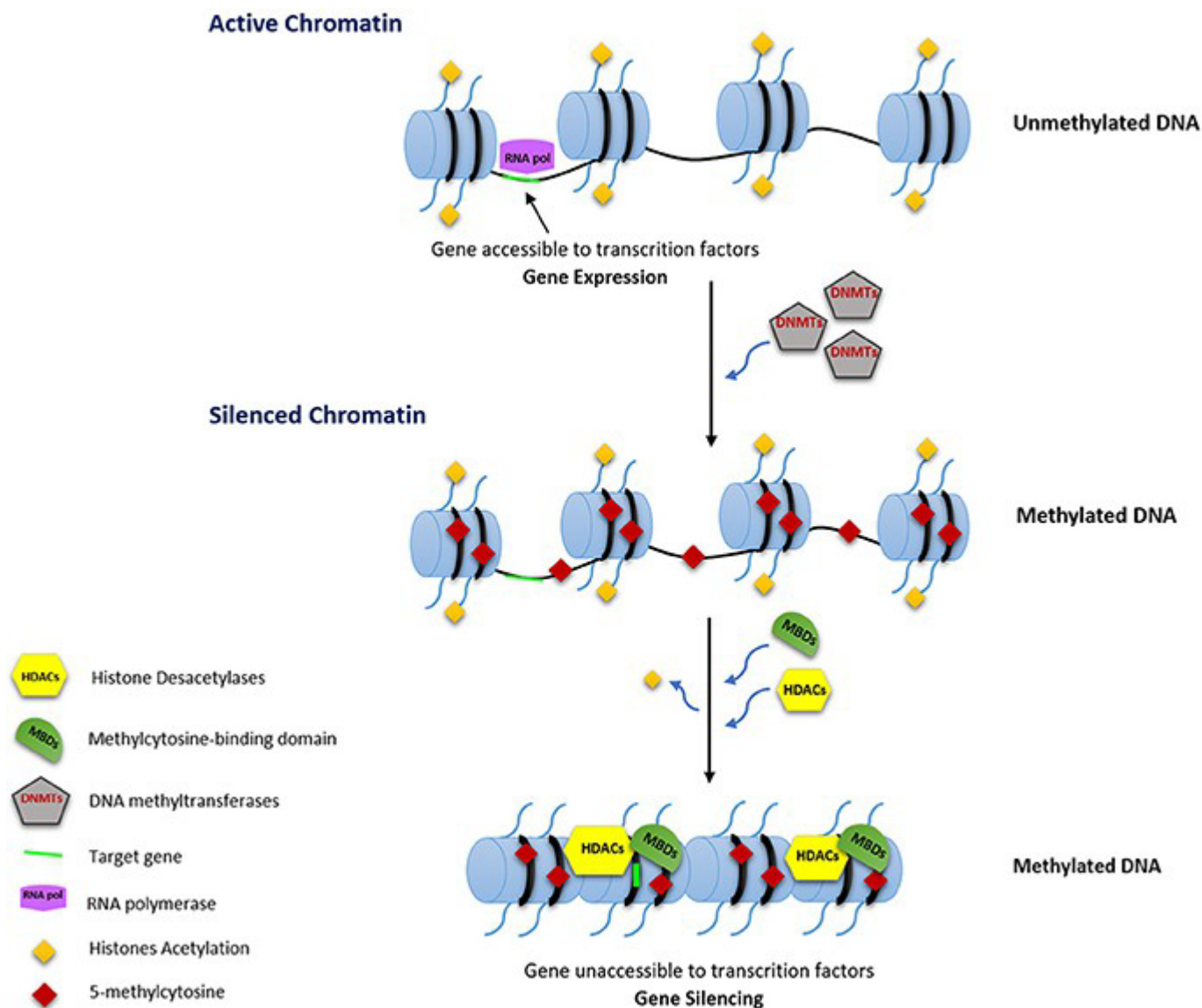


- Μεθυλιωμένο
- Μη μεθυλιωμένο

Τρόποι καταστολής της γονιδιακής έκφρασης



Η μεθυλίωση του DNA προκαλεί καταστολή της γονιδιακής έκφρασης



Σύνοψη II



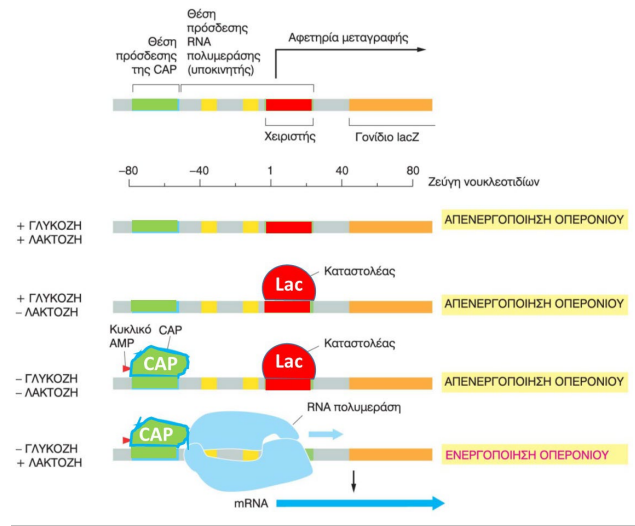
Η ρύθμιση της μεταγραφής γίνεται κυρίως:

- 1. Μέσω μεταγραφικών ρυθμιστών που επηρεάζουν τη συναρμολόγηση της RNA πολυμεράσης και των γενικών μεταγραφικών παραγόντων στον υποκινητή (+/-)**
- 2. Πρωτεϊνών που φέρνουν κοντά στο χώρο μεταγραφικούς ρυθμιστές και ενισχυτές (θηλειές χρωματίνης, μεσολαβητές) (+/-)**
- 3. Πρωτεϊνών που τροποποιούν τη δομή της χρωματίνης στις περιοχές των υποκινητών (+/-)**
- 4. Πρωτεϊνών που μεθυλιώνουν το DNA (-)**



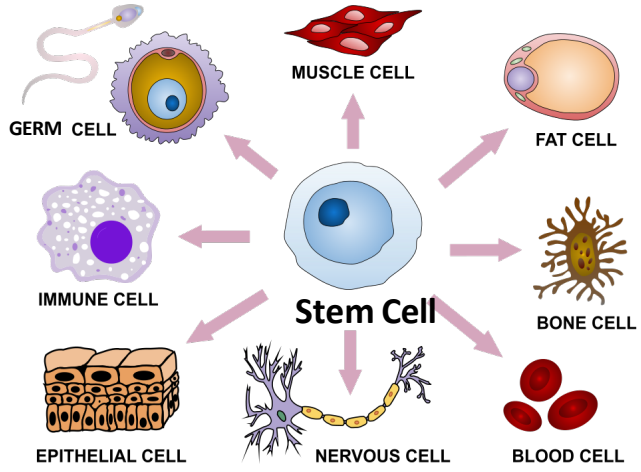
Για τη δημιουργία εξειδικευμένων κυτταρικών τύπων ευθύνονται μοριακοί μηχανισμοί

Το φαινόμενο της απόκρισης του **βακτηριακού** κυττάρου σε εξωτερικά ερεθίσματα/αλλαγές περιβάλλοντος αφορά **απλές αλλαγές στην έκφραση γονιδίων** που διαρκούν όσο και το ερέθισμα (π.χ. οπερόνιο της λακτόζης)



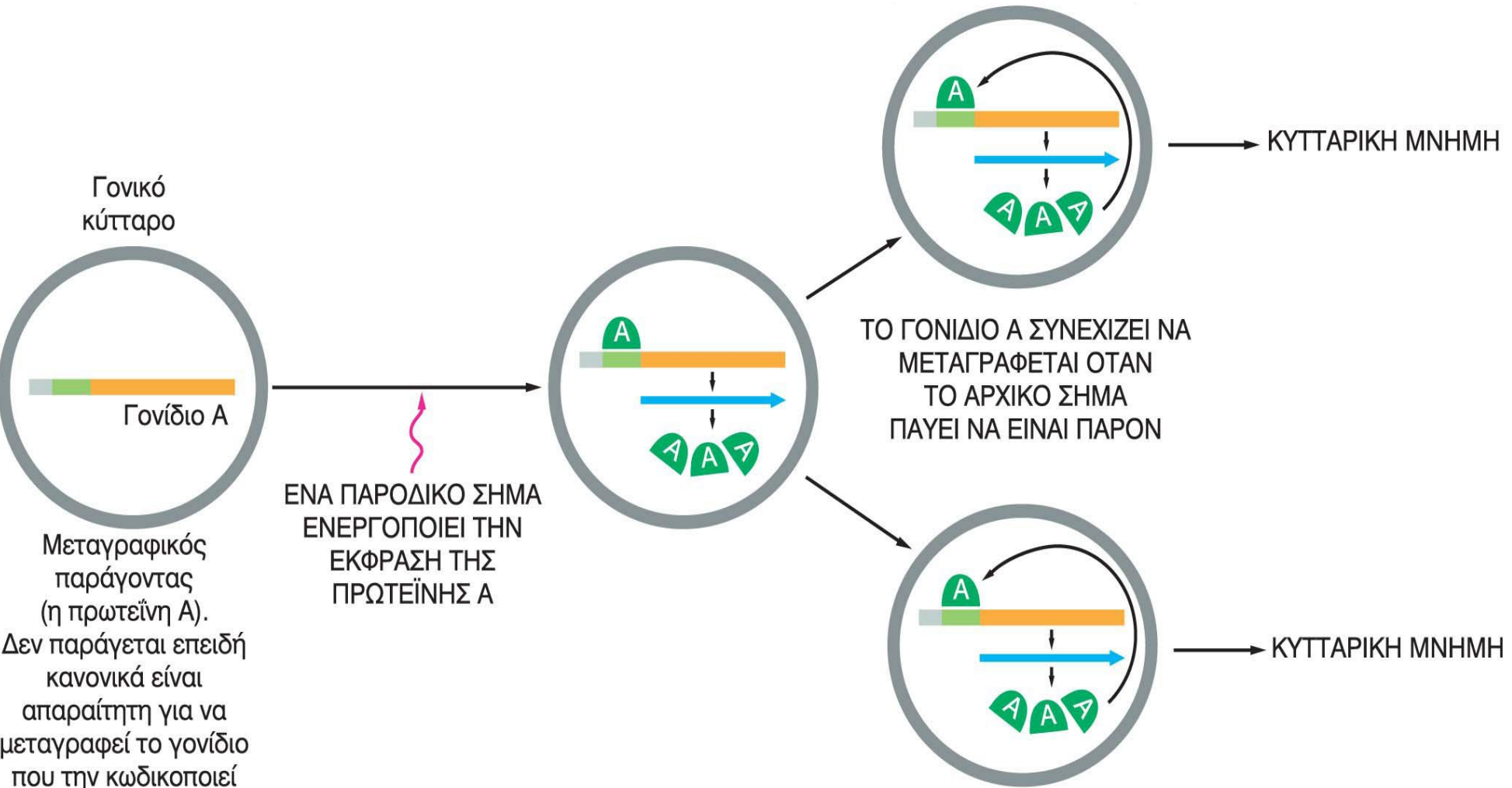
Για τη «δέσμευση» (commitment) ενός **ευκαρυωτικού** κυττάρου για να διαφοροποιηθεί προς μια συγκεκριμένη κατεύθυνση

- η επιλογή της κατεύθυνσης του κυττάρου πρέπει να διατηρείται σε πολλές κυτταρικές γενιές
- Πρέπει να υπάρχει ανάμνηση των αλλαγών στην έκφραση των γονιδίων που εμπλέκονται σε αυτή την επιλογή (κάτι σαν **κυτταρική μνήμη**):



Σταθερά πρότυπα έκφρασης των γονιδίων μπορεί να μεταβιβαστούν στα θυγατρικά κύτταρα

Μηχανισμός θετικής ανατροφοδότησης



Γονικό κύτταρο

Γονίδιο A

Μεταγραφικός παράγοντας (η πρωτεΐνη A). Δεν παράγεται επειδή κανονικά είναι απαραίτητη για να μεταγραφεί το γονίδιο που την κωδικοποιεί

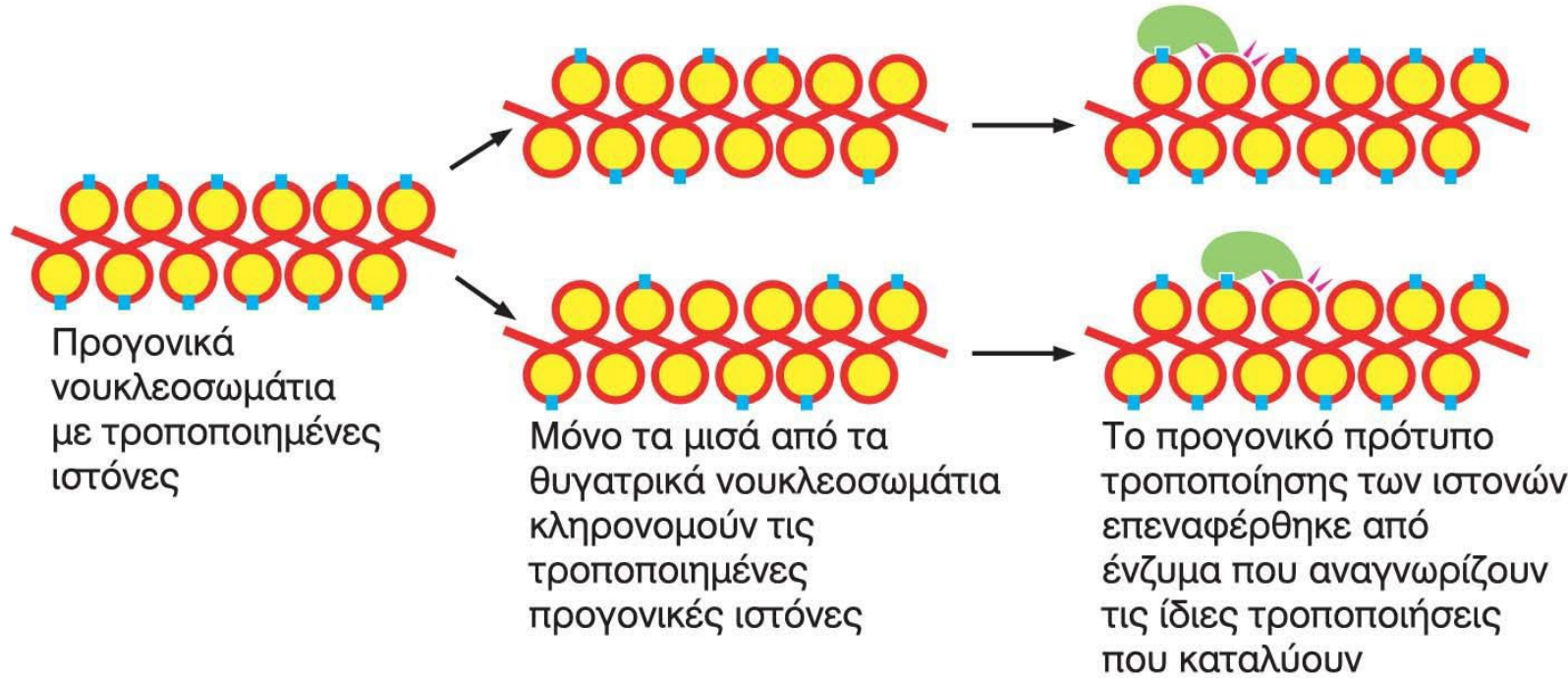
ΕΝΑ ΠΑΡΟΔΙΚΟ ΣΗΜΑ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙ ΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ A

Θυγατρικά κύτταρα

ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ A ΣΥΝΕΧΙΖΕΙ ΝΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΕΤΑΙ ΟΤΑΝ ΤΟ ΑΡΧΙΚΟ ΣΗΜΑ ΠΑΥΕΙ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΠΑΡΟΝ

ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΝΗΜΗ

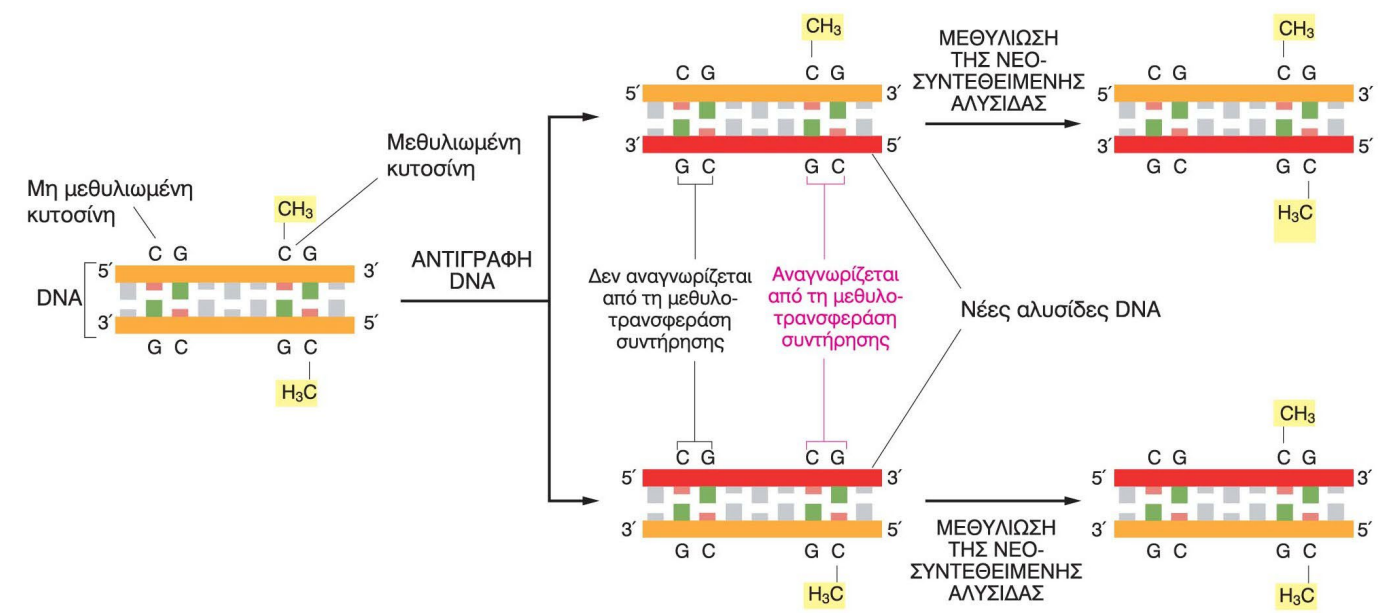
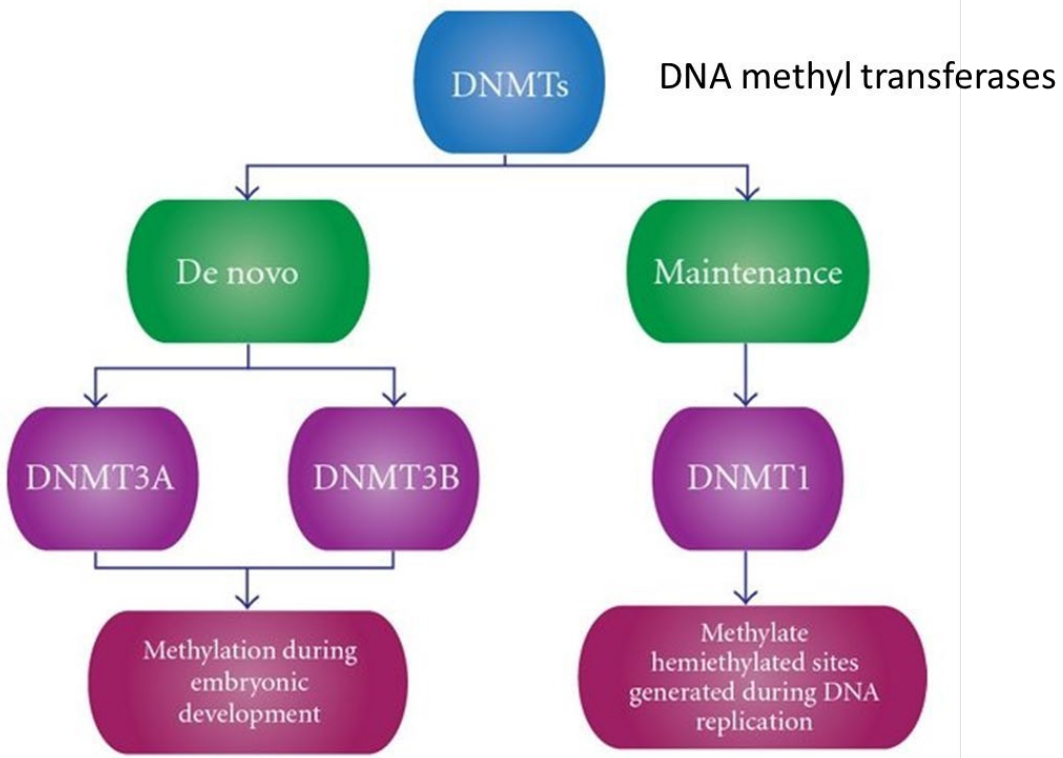
ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΝΗΜΗ



Εικόνα 8-23. Τροποποιήσεις ιστονών κληρονομούνται στα θυγατρικά χρωμοσώματα. Όταν ένα χρωμόσωμα αντιγράφεται, οι ιστόνες του κατανέμονται τυχαία σε καθεμία από τις δύο θυγατρικές διπλές έλικες. Επομένως, κάθε θυγατρικό χρωμόσωμα θα κληρονομήσει περίπου τη μισή συλλογή τροποποιημένων ιστονών από το προγονικό κύτταρο. Οι υπόλοιπες περιοχές DNA, περιέχουν νεοσυντεθειμένες μη τροποποιημένες ακόμη, ιστόνες. Αν τα υπεύθυνα για κάθε τύπο τροποποίησης ένζυμα προσδε-

θούν στο σημείο της συγκεκριμένης τροποποίησης την οποία δημιουργούν, τότε θα καταλύσουν την επέκταση αυτής της τροποποίησης στις νέες ιστόνες. Αυτός ο κύκλος τροποποίησης και αναγνώρισης επαναφέρει το προγονικό πρότυπο τροποποίησης των ιστονών και, τελικά, επιτρέπει την κληρονόμηση της προγονικής δομής της χρωματίνης. Αυτός ο μηχανισμός ισχύει για ορισμένους αλλά όχι για όλους τους τύπους τροποποιήσεων ιστονών.

Κληρονóμηση μεθυλίωσης DNA στα θυγατρικά κύτταρα

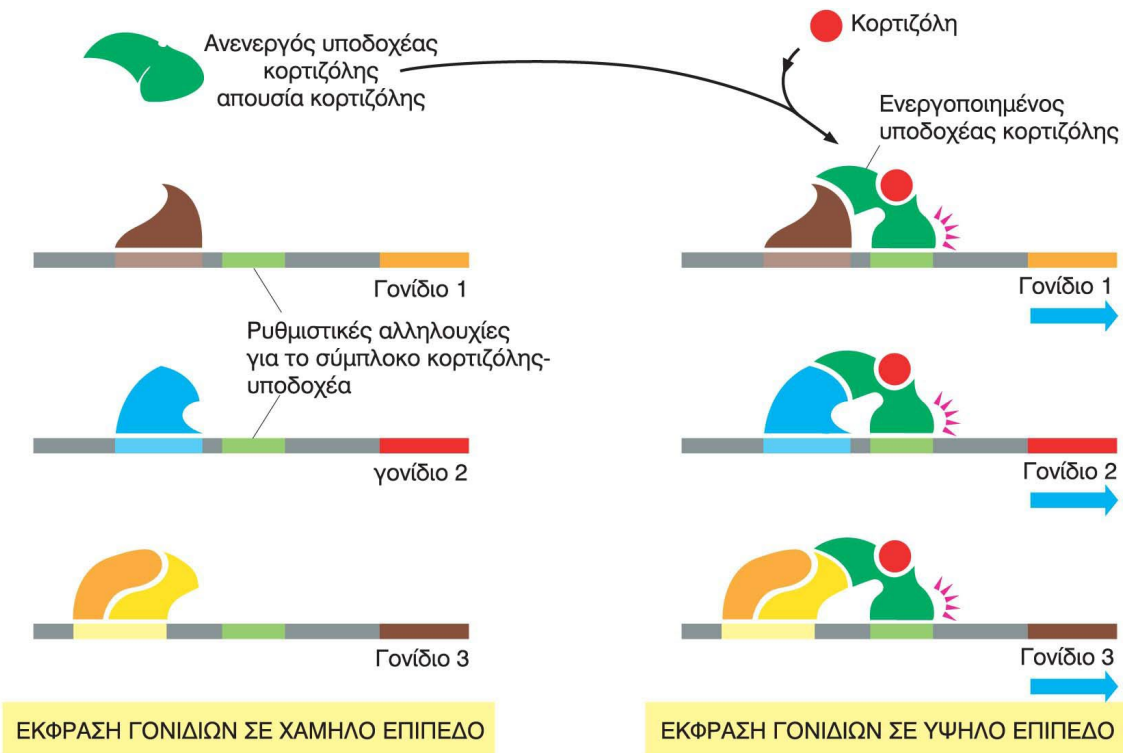


Εικόνα 8-22. Τα πρότυπα μεθυλίωσης του DNA μπορεί να κληρονομηθούν με πιστότητα κατά τη διαίρεση του κυττάρου. Ένα ένζυμο που καλείται μεθυλοτρανσφεράση συντήρησης διασφαλίζει ότι μόλις εγκατασταθεί ένα πρότυπο μεθυλίωσης, θα κληρονομηθεί στο νεο-συντεθειμένο DNA των θυγατρικών κυττάρων. Αμέσως μετά την αντιγραφή, κάθε θυγατρική διπλή έλικα περιέχει ένα μεθυλιωμένο κλώνο, ο οποίος κληρονομήθηκε από την προγονική διπλή έλικα, κι έναν μη μεθυλιωμένο κλώνο που μόλις έχει συντεθεί. Η μεθυλοτρανσφεράση συντήρησης αλληλεπιδρά με τη θυγατρική διπλή έλικα και μεθυλιώνει μόνο τις αλληλουχίες CG που βρίσκονται ζευγαρωμένες με ήδη μεθυλιωμένες αλληλουχίες CG.

Η έκφραση διαφόρων γονιδίων μπορεί να συντονιστεί από μια ρυθμιστική πρωτεΐνη



Η παρουσία μιας ρυθμιστικής πρωτεΐνης που εκφράζεται υπό συγκεκριμένες συνθήκες μπορεί να αλλάξει την έκφραση πολλών γονιδίων

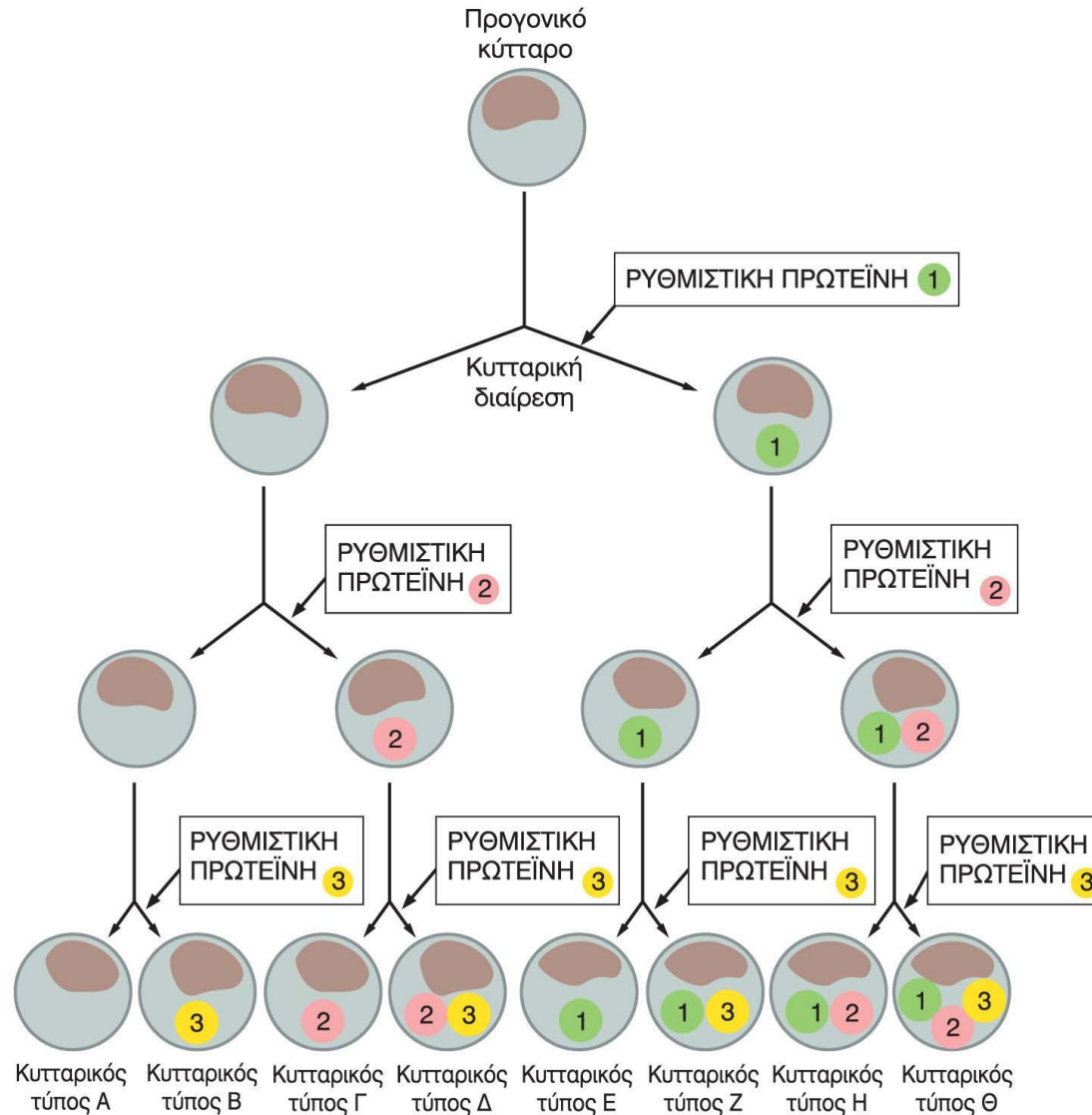


Γλυκοκορτικοειδές + υποδοχέας γλυκοκορτικοειδών → ενεργοποίηση του γονιδίου αμινοτρανσφεράση της τυροσίνης

Τυροσίνη σε γλυκόζη στα ηπατοκύτταρα

Εικόνα 8-15. Ένας μόνο μεταγραφικός ρυθμιστής μπορεί να συντονίσει την έκφραση αρκετών διαφορετικών γονιδίων. Στο σχήμα αποδίδεται διαγραμματικά η δράση του υποδοχέα της κορτιζόλης. Στη ρυθμιστική περιοχή καθενός από τα γονίδια που παρουσιάζονται στο αριστερό μέρος της εικόνας έχουν προσδεθεί ποικίλες ενεργοποιητικές πρωτεΐνες. Ωστόσο, από μόνες τους, αυτές οι πρωτεΐνες δεν επαρκούν για να ενεργοποιήσουν αποτελεσματικά τη μεταγραφή. Στα δεξιά φαίνεται η επίδραση της προσθήκης μιας ρυθμιστικής πρωτεΐνης (σύμπλοκο κορτιζόλης-υποδοχέα) που προσδέεται στην ίδια ρυθμιστική αλληλουχία DNA σε κάθε γονίδιο. Ο ενεργοποιημένος υποδοχέας της κορτιζόλης ολοκληρώνει το συνδυασμό των ρυθμιστικών πρωτεϊνών που είναι απαραίτητος για να αρχίσει αποτελεσματικά η μεταγραφή, οπότε τα τρία γονίδια ενεργοποιούνται ως σύνολο.

Συνδυασμός ρυθμιστών → πολλοί τύποι κυττάρων

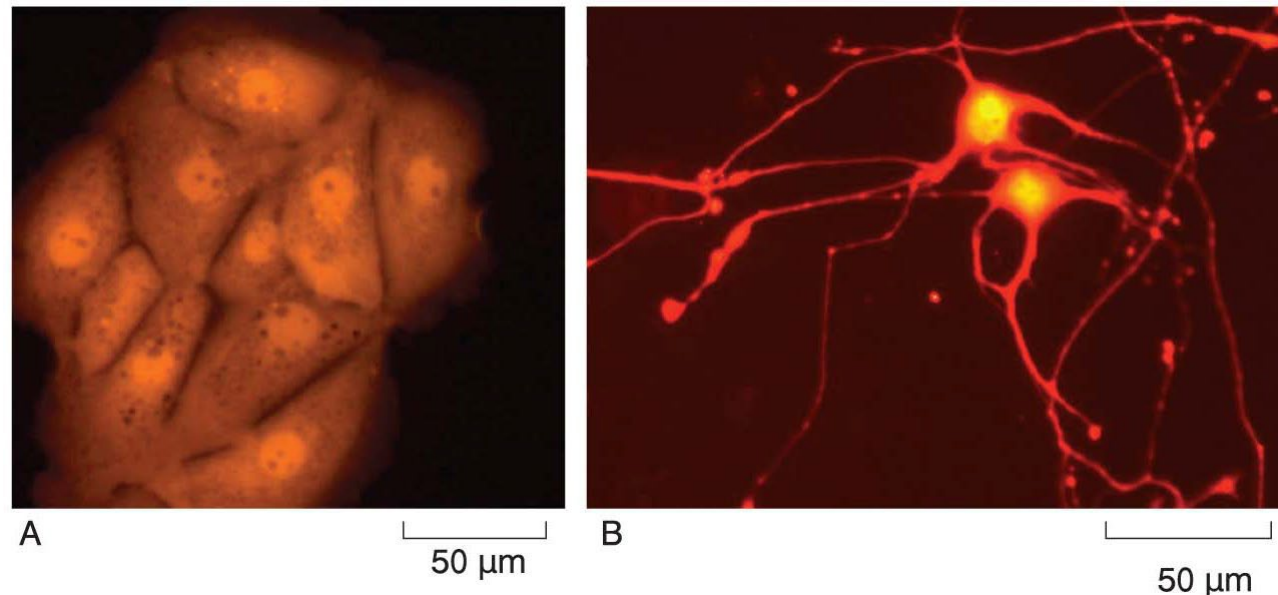


Εικόνα 8-17. Συνδυασμοί λίγων μεταγραφικών ρυθμιστών μπορούν να δημιουργήσουν πολλούς τύπους κυττάρων κατά την ανάπτυξη. Σε αυτό το απλό υπόδειγμα, η «απόφαση» για την παραγωγή ενός νέου μεταγραφικού ρυθμιστή (αποδίδεται μ' έναν αριθμημένο κύκλο) λαμβάνεται μετά από κάθε κυτταρική διαίρεση. Η επανάληψη αυτού του απλού κανόνα επιτρέπει να δημιουργηθούν οκτώ τύποι κυττάρων (Α έως Θ) με τη χρησιμοποίηση μόλις τριών διαφορετικών μεταγραφικών ρυθμιστών. Καθένας από αυτούς τους υποθετικούς τύπους κυττάρων θα εκφράζει πολλά διαφορετικά γονίδια, κατευθυνόμενος από τη συνδυαστική επίδραση των μεταγραφικών ρυθμιστών που παράγει κάθε κυτταρικός τύπος.

Συνδυασμός μικρού αριθμού ρυθμιστικών πρωτεϊνών προκαλεί τη διαφοροποίηση σε διάφορους κυτταρικούς τύπους



Εικόνα 8-16. Λίγες μεταγραφικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες μπορούν να μετατρέψουν άμεσα ένα διαφοροποιημένο κυτταρικό τύπο σ' έναν άλλο. Σε αυτό το πείραμα, ηπατοκύτταρα που αναπτύσσονται σε καλλιέργεια **(A)** μετατράπηκαν σε νευρικά κύτταρα **(B)** μέσω της τεχνητής εισαγωγής τριών νευρο-ειδικών μεταγραφικών ρυθμιστών. Τα κύτταρα σημάνθηκαν με μια φθορίζουσα χρωστική. (Από S. Marro et al., Cell Stem Cell 9: 374-378, 2011. Κατόπιν αδείας από Elsevier).



Ηπατικά κύτταρα



Νευρικά κύτταρα

Συνδυασμός μικρού αριθμού ρυθμιστικών πρωτεϊνών προκαλεί τη διαφοροποίηση σε διάφορους κυτταρικούς τύπους

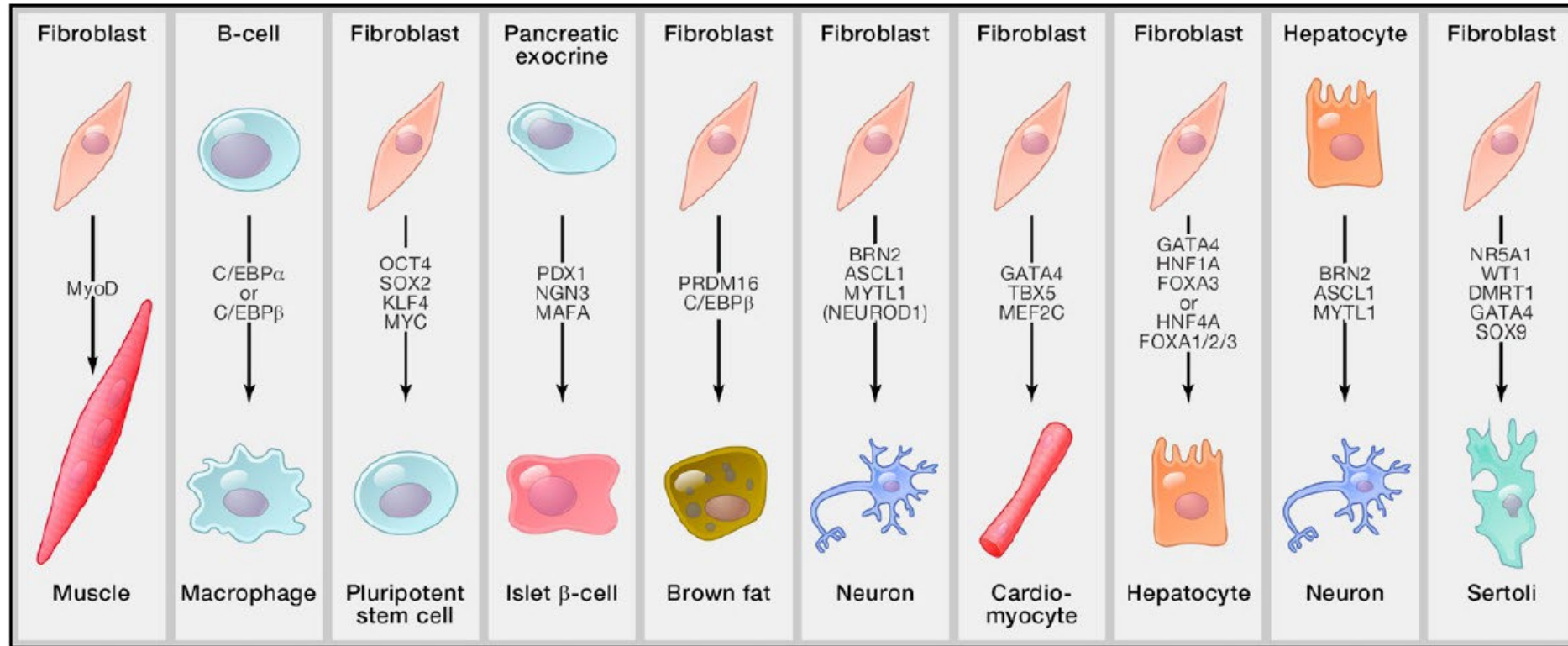


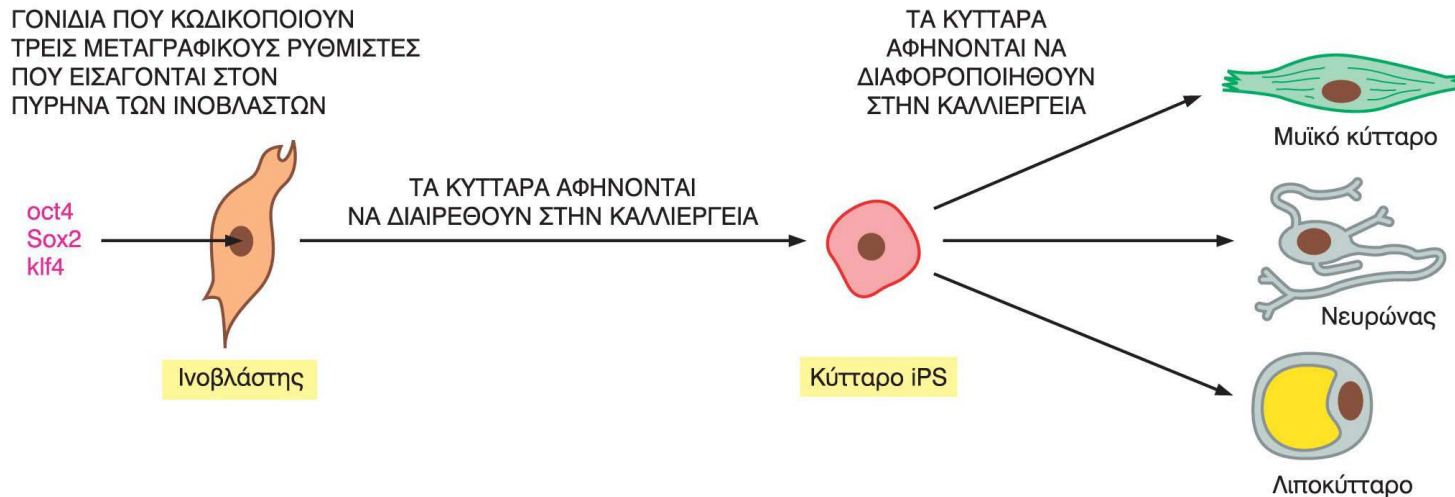
Figure 2. Master Transcriptional Regulators and Reprogramming Factors

Transcription factors that have dominant roles in the control of specific cell states and that are capable of reprogramming cell states when ectopically expressed in various cell types (Buganim et al., 2012; Davis et al., 1987; Huang et al., 2011; Ieda et al., 2010; Kajimura et al., 2009; Marro et al., 2011; Pang et al., 2011; Sekiya and Suzuki, 2011; Takahashi and Yamanaka, 2006; Vierbuchen et al., 2010; Xie et al., 2004; Zhou et al., 2008).

Η έκφραση διαφόρων γονιδίων μπορεί να συντονιστεί από μια ρυθμιστική πρωτεΐνη



Συνδυασμός μικρού αριθμού **μεταγραφικών ρυθμιστικών πρωτεϊνών** μπορεί να αναγκάσει διάφορα είδη **διαφοροποιημένων** κυττάρων να **απο-διαφοροποιηθούν** σε **επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (induced-pluripotent stem cells, iPS)** και στη συνέχεια να επαχθεί η **διαφοροποίηση** τους σε **διάφορους κυτταρικούς τύπους**



Εικόνα 8-18. Ένας συνδυασμός μεταγραφικών ρυθμιστών μπορεί να επαγάγει την αποδιαφοροποίηση ενός διαφοροποιημένου κυττάρου σε πολυδύναμο κύτταρο. Η τεχνητή έκφραση μιας ομάδας τεσσάρων γονιδίων, καθένα από τα οποία κωδικοποιεί μια ρυθμιστική πρωτεΐνη, αναπρογραμματίζει μια ινοβλάστη σ' ένα πολυδύναμο κύτταρο με ιδιότητες παρόμοιες ενός αδιαφοροποίητου εμβρυονικού βλαστικού κυττάρου. Όπως τα βλαστικά κύτταρα, αυτά τα επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (iPS) μπορούν να πολλαπλασιαστούν επ' άοριστον σε καλλιέργεια και με τη βοήθεια κατάλληλων εξωκυττάρων μορίων, να διεγερθούν και να διαφοροποιηθούν σε σχεδόν κάθε κυτταρικό τύπο.



Nobel in Physiology and Medicine 2012: **Shinya Yamanaka** succeeded in identifying a small number of genes within the genome of mice that proved decisive in this process. When activated, skin cells from mice could be reprogrammed to immature stem cells, which, in turn, can grow into different types of cells within the body.

Η έκφραση διαφόρων γονιδίων μπορεί να συντονιστεί από μια ρυθμιστική πρωτεΐνη



Συνδυασμός μικρού αριθμού μεταγραφικών ρυθμιστικών πρωτεϊνών μπορεί να αναγκάσει διάφορα είδη διαφοροποιημένων κυττάρων να **απο-διαφοροποιηθούν** σε **επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (induced-pluripotent stem cells, iPS)** και στη συνέχεια να επαχθεί η **διαφοροποίηση τους σε διάφορους κυτταρικούς τύπους**

ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΟΥ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΟΥΝ
ΤΡΕΙΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥΣ ΡΥΘΜΙΣΤΕΣ
ΠΟΥ ΕΙΣΑΓΟΝΤΑΙ ΣΤΟΝ
ΠΥΡΗΝΑ ΤΩΝ ΙΝΟΒΛΑΣΤΩΝ

oct4
Sox2
klf4

Ινοβλάστης

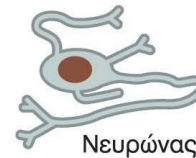
ΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΦΗΝΟΝΤΑΙ
ΝΑ ΔΙΑΙΡΕΘΟΥΝ ΣΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

Κύτταρο iPS

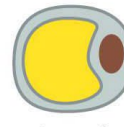
ΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ
ΑΦΗΝΟΝΤΑΙ ΝΑ
ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΘΟΥΝ
ΣΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ



Μυϊκό κύτταρο

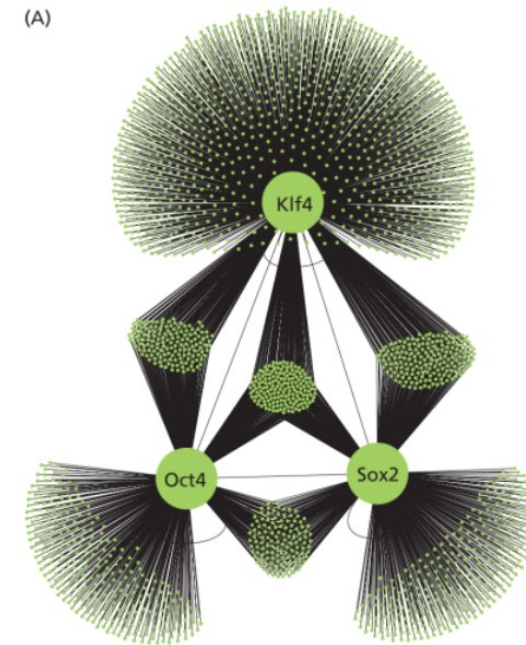


Νευρώνας

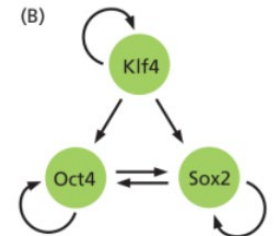


Λιποκύτταρο

(A)



(B)



Εικόνα 8-18. Ένας συνδυασμός μεταγραφικών ρυθμιστών μπορεί να επαγάγει την αποδιαφοροποίηση ενός διαφοροποιημένου κυττάρου σε πολυδύναμο κύτταρο. Η τεχνητή έκφραση μιας ομάδας τεσσάρων γονιδίων, καθένα από τα οποία κωδικοποιεί μια ρυθμιστική πρωτεΐνη, αναπρογραμματίζει μια ινοβλάστη σ' ένα πολυδύναμο κύτταρο με ιδιότητες παρόμοιες ενός αδιαφοροποίητου εμβρυονικού βλαστικού κυττάρου. Όπως τα βλαστικά κύτταρα, αυτά τα επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (iPS) μπορούν να πολλαπλασιαστούν επ' άοριστον σε καλλιέργεια και με τη βοήθεια κατάλληλων εξωκυττάρων μορίων, να διεγερθούν και να διαφοροποιηθούν σε σχεδόν κάθε κυτταρικό τύπο.

Σύνοψη III



- **Συνδυασμός μεταγραφικών ρυθμιστών ελέγχει τη γονιδιακή έκφραση στους ευκαρυώτες**
- Τα κύτταρα πολυκύτταρων οργανισμών διαθέτουν **επιγενετικούς μηχανισμούς** που επιτρέπουν στα θυγατρικά κύτταρα **«να θυμούνται τι κυτταρικός τύπος πρέπει να είναι»**
- Εάν ένας μεταγραφικός ρυθμιστής εκφραστεί στο κατάλληλο προγονικό κύτταρο μπορεί να πυροδοτήσει το σχηματισμό **ενός εξειδικευμένου είδους κυττάρων ή οργάνου**
- Υπάρχουν **μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις** που επίσης ελέγχουν τη **γονιδιακή έκφραση**

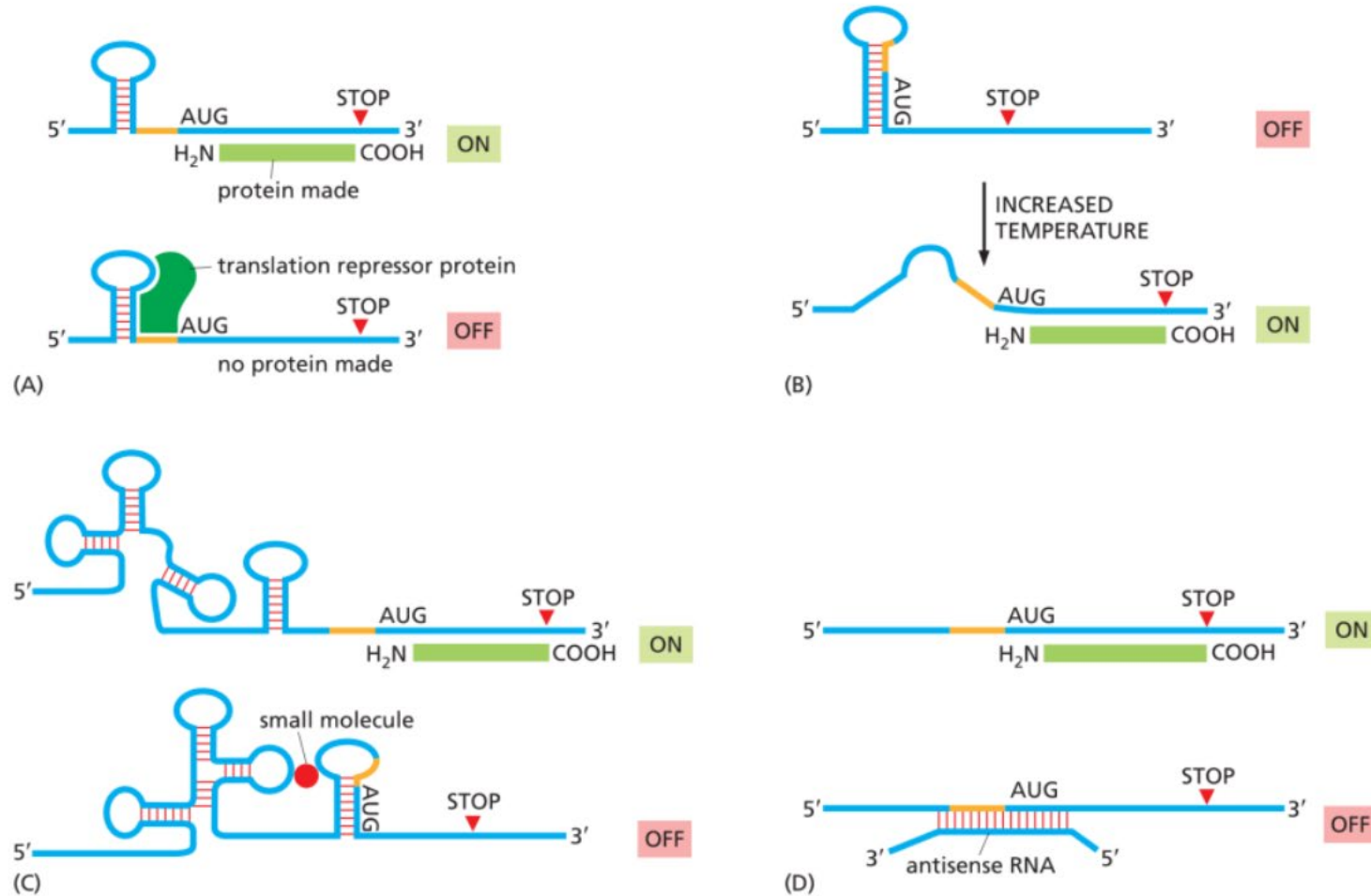
Τα μόρια RNA περιέχουν την πληροφορίες για την ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης

Τα είδη των μορίων RNA που παράγονται στα κύτταρα	
Είδος RNA	Λειτουργία
Αγγελιοφόρο RNA (mRNA)	Κωδικοποιούν πρωτεΐνες
Ριβοσωμικό RNA (rRNA)	Δημιουργούν τον πυρήνα της δομής του ριβοσωματίου που καταλύει την σύνθεση των πρωτεϊνών
μικρο RNA (miRNA)	Ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων
Μεταφορικό RNA (tRNA)	Χρησιμοποιούνται στην πρωτεϊνσύνθεση ως μόρια διασύνδεσης του mRNA με τα αμινοξέα
Άλλα μη κωδικοποιητικά RNA (non-coding RNAs)	Χρησιμοποιούνται στη συρραφή του RNA, στη γονιδιακή ρύθμιση, στη διατήρηση των τελομεριδίων και σε άλλες διεργασίες του κυττάρου

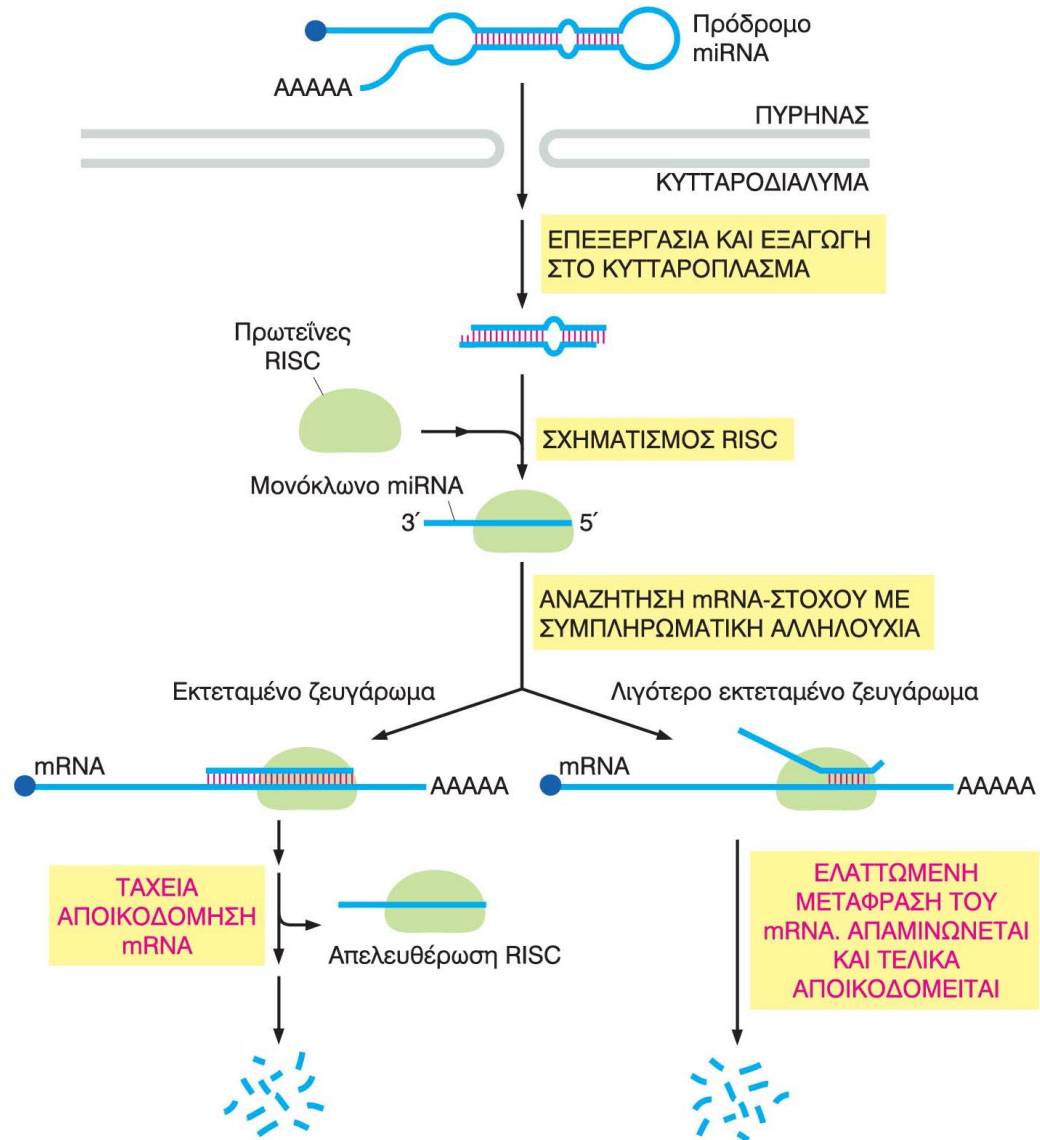
Types of RNA Produced in Cells

<p>mRNA</p> <p>Encodes proteins</p>	<p>tRNA</p> <p>Acts as adaptor between mRNA and amino acids</p>	<p>rRNA</p> <p>Forms the ribosome</p>	<p>snRNA</p> <p>Functions in various nuclear processes (e.g. splicing)</p>
<p>snoRNA</p> <p>Facilitates chemical modification of RNAs</p>	<p>miRNA</p> <p>Regulates gene expression</p>	<p>siRNA</p> <p>Silences gene expression</p>	<p>lncRNA</p> <p>Regulates gene expression</p>

Η έκφραση ενός βακτηριακού γονιδίου μπορεί να ελεγχθεί μέσω ρύθμισης της μετάφρασης του mRNA του



Ένα miRNA προκαλεί την καταστροφή ενός συμπληρωματικού mRNA-στόχου



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2024



Ill. Niklas Elmehed © Nobel Prize Outreach
Victor Ambros
Prize share: 1/2



Ill. Niklas Elmehed © Nobel Prize Outreach
Gary Ruvkun
Prize share: 1/2

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2024 was awarded jointly to Victor Ambros and Gary Ruvkun "for the discovery of **microRNA** and its role in **post-transcriptional gene regulation**"



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

EBioMedicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ebiom



Research paper

Transfer of hepatocellular microRNA regulates cytochrome P450 2E1 in renal tubular cells

Olivia Matthews^{1,†}, Emma E. Morrison^{1,†}, John D. Tranter¹, Philip Starkey Lewis², Iqbal S. Toor¹, Abhishek Srivastava³, Rebecca Sargeant³, Helen Rollison³, Kylie P. Matchett⁴, Timothy J. Kendall⁴, Gillian A. Gray¹, Chris Goldring⁵, Kevin Park⁵, Laura Denby¹, Neeraj Dhaun¹, Matthew A. Bailey¹, Neil C. Henderson^{4,6}, Dominic Williams³, James W. Dear^{1,*}

¹ Centre for Cardiovascular Science, The Queen's Medical Research Institute, University of Edinburgh, United Kingdom

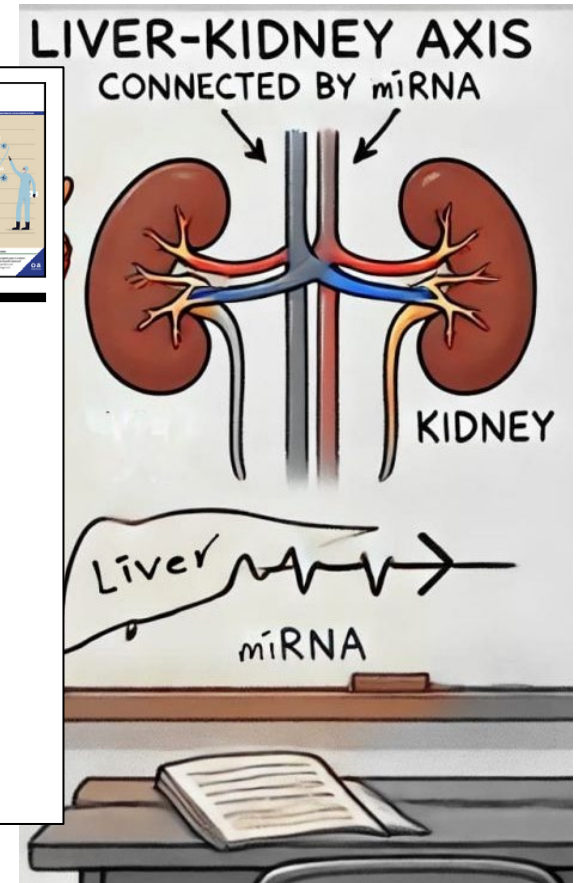
² Medical Research Council Centre for Regenerative Medicine, University of Edinburgh, United Kingdom

³ AstraZeneca, Clinical Pharmacology & Safety Sciences Department, Biopharmaceuticals Science Unit, Darwin Building 310, Cambridge Science Park, Milton Rd, Cambridge, CB4 0FZ, United Kingdom

⁴ Centre for Inflammation Research, The Queen's Medical Research Institute, University of Edinburgh, United Kingdom

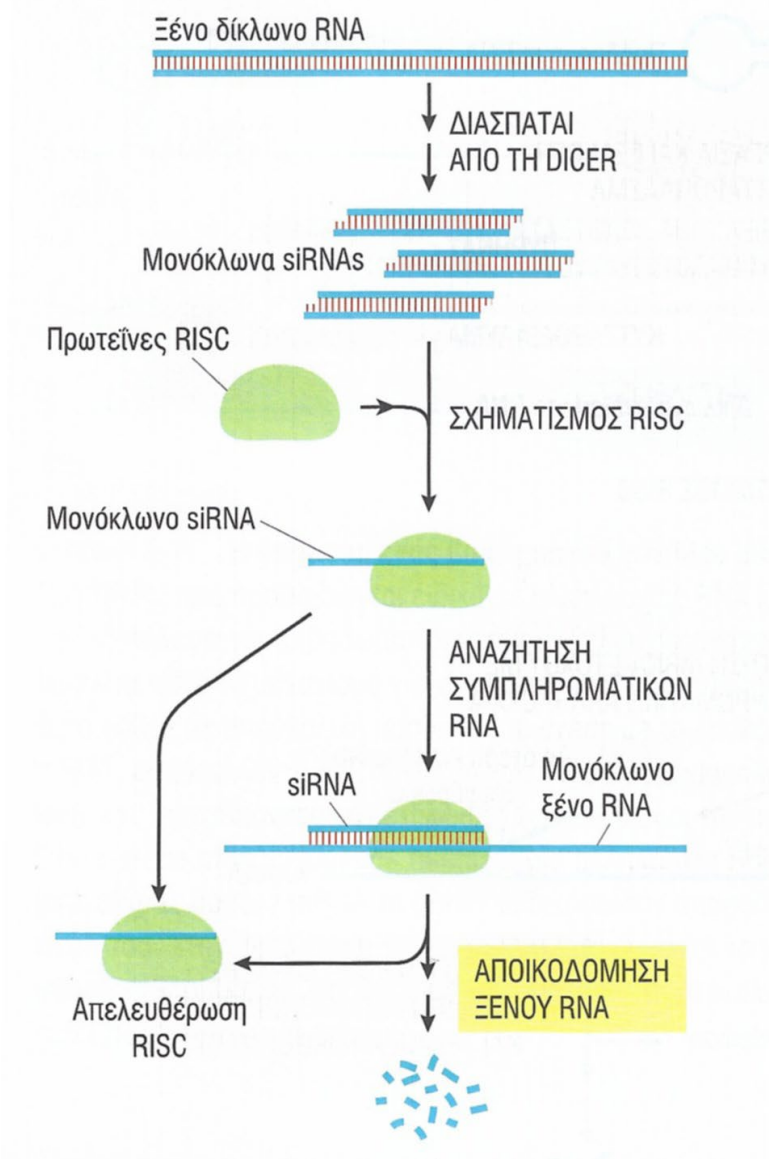
⁵ Department of Molecular and Clinical Pharmacology, MRC Centre for Drug Safety Science, University of Liverpool, United Kingdom

⁶ MRC Human Genetics Unit, Institute of Genetics and Molecular Medicine, University of Edinburgh, Crewe Road South, Edinburgh EH4 2XU, United Kingdom





Τα μικρά παρεμβαλλόμενα RNA (small interfering RNAs, siRNAs) προστατεύουν τα κύτταρα από ιικά DNA



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2006



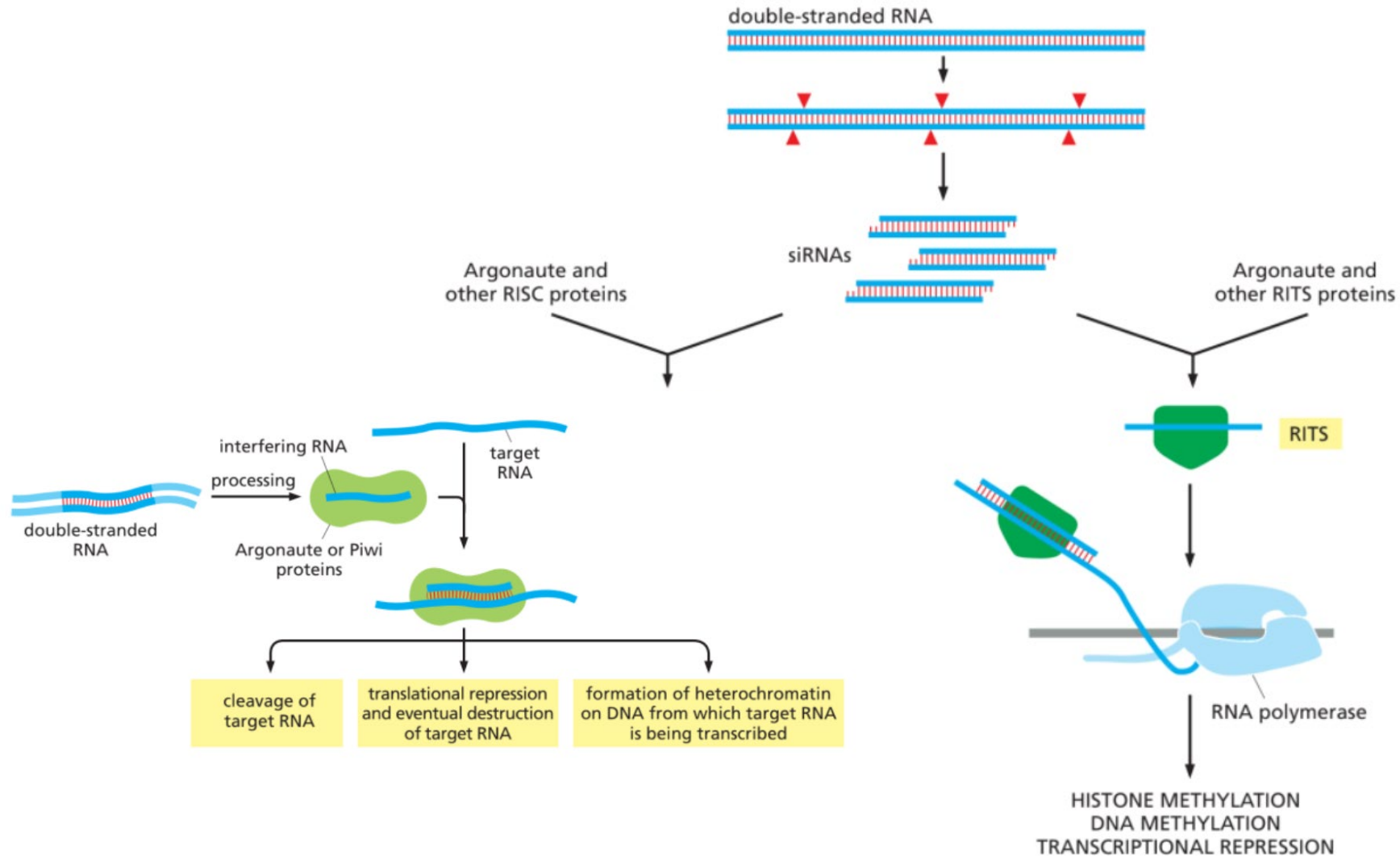
Photo: L. Cicero
Andrew Z. Fire
Prize share: 1/2



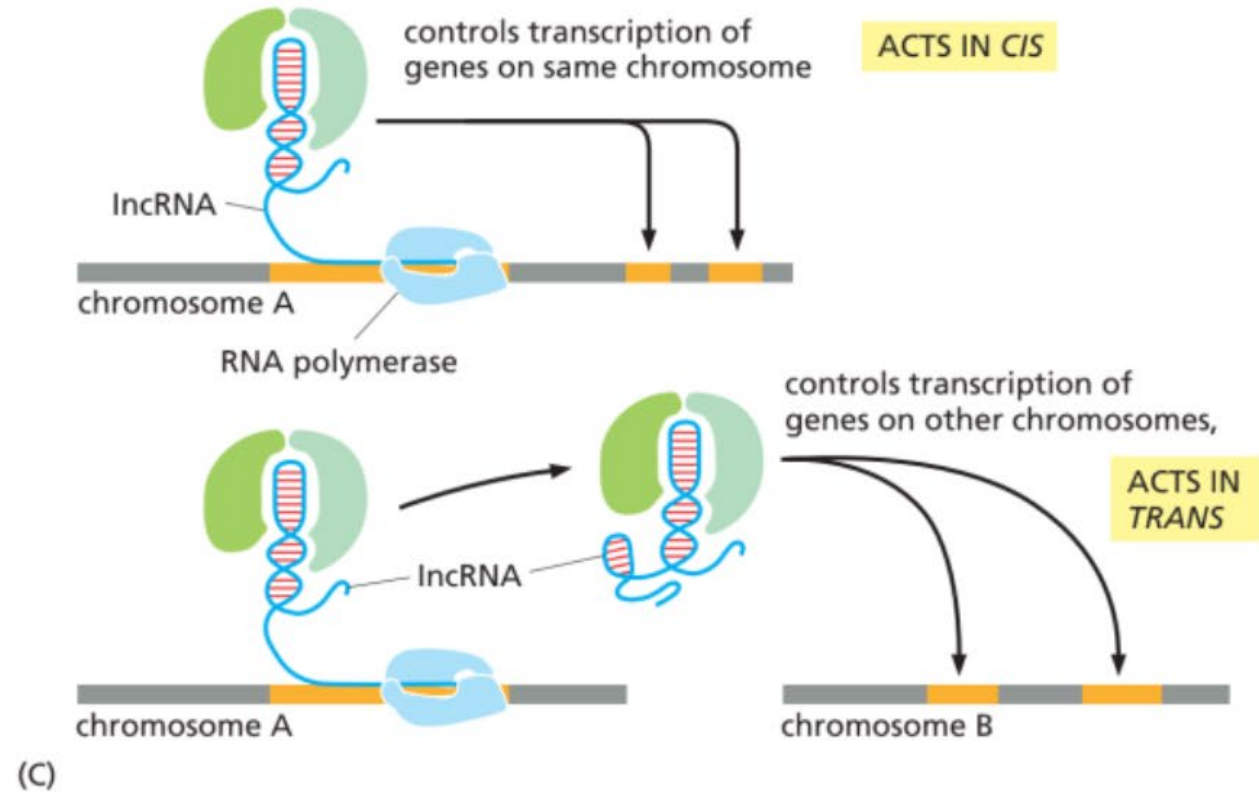
Photo: J. Mottern
Craig C. Mello
Prize share: 1/2

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2006 was awarded jointly to Andrew Z. Fire and Craig C. Mello "for their discovery of **RNA interference - gene silencing** by double-stranded RNA"

Η παρεμβολή RNA (RNA interference, RNAi) μπορεί να επάγει την μεταγραφική αποσιώπηση με πολλούς τρόπους



Τα μεγάλα μη κωδικοποιητικά μόρια RNA (long non-coding RNAs, lncRNAs) ελέγχουν την μεταγραφή πολλών γονιδίων



Σύνοψη IV



- Τα κύτταρα μπορεί να ρυθμίσουν την έκφραση των γονιδίων ελέγχοντας διάφορα βήματα που συμβαίνουν μετά την έναρξη της μεταγραφής. Πολλοί από αυτούς τους μετά-μεταγραφικούς μηχανισμούς βασίζονται σε **μόρια RNA** που επηρεάζουν τη σταθερότητα και τη μετάφραση των mRNA.
- Τα διάφορα μόρια μικρόRNA (**microRNA, miRNA**) ελέγχουν την έκφραση γονιδίων ζευγαρώνοντας ειδικά με μόρια mRNA σύμφωνα με τους κανόνες της συμπληρωματικότητας των βάσεων. Έτσι **παρεμποδίζουν τη μετάφραση** αυτών των mRNA.
- Τα κύτταρα διαθέτουν ένα **μηχανισμό άμυνας** για την **καταστροφή ξένων δίκλωνων RNA**, πολλά από τα οποία προέρχονται από ιούς. Αυτός ο μηχανισμός χρησιμοποιεί μικρά παρεμβαλλόμενα RNA (**small interfering RNA, siRNA**) που παράγονται από ξένα μόρια RNA με μια διεργασία που αποκαλείται παρεμβολή RNA (RNA interference, RNAi).
- Η πρόσφατη ανακάλυψη χιλιάδων μεγάλων **μη κωδικοποιητικών RNA** στα θηλαστικά, έχει ανοίξει ένα πεδίο σχετικά με το ρόλο των διαφόρων μορίων Άρη νέοι στη γονιδιακή ρύθμιση.