



ΚΦΕ 53
ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΗΣ ΥΛΗΣ ΣΕ ΕΜΒΙΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ
2015-2016
Ανδρέας Σκορίλας

2^η ΕΡΓΑΣΙΑ

Αναστάσιος Νέζης
AM: 81717

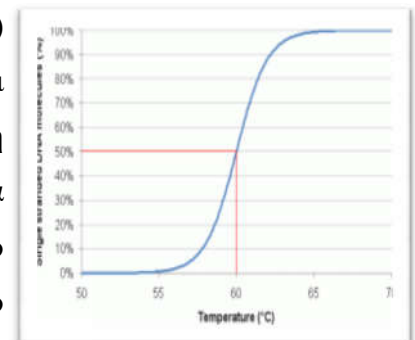
Θέμα 1Α

Δίνονται δύο διαλύματα τα οποία περιέχουν διαφορετικά μόρια DNA σε καθαρή κατάσταση. Το ένα από αυτά απομονώνεται από βακτήριο και έχει περιεκτικότητα σε GC 70% ενώ το άλλο απομονώνεται από κύτταρα θηλαστικού και έχει περιεκτικότητα σε AT 60%.

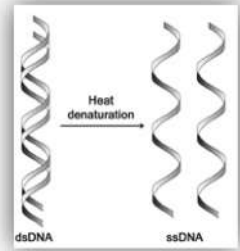
I. Ποιο από τα δύο διαλύματα έχει την υψηλότερη T_m και γιατί;

II. Τα δύο διαλύματα του DNA τήκονται και στη συνέχεια αναμειγνύονται μαζί και αφήνονται να ψυχθούν. Τι θα συμβεί;

Το σπάσιμο της διπλής έλικας του DNA (double strand: dsDNA) σε δύο μονούς κλώνους (single strand: ssDNA) ονομάζεται αποδιάταξη του DNA. Ένα είδος αποδιάταξης είναι η θερμική τήξη του DNA (γίνεται με θέρμανση) και ονομάζουμε θερμοκρασία τήξης (melting temperature ή T_m) την θερμοκρασία στην οποία το 50% του dsDNA έχει διασπαστεί σε ssDNA. Η T_m εξαρτάται από διάφορους παράγοντες:



- ❖ Από το ποσοστό GC στο μόριο του DNA. Τα G-C ζεύγη βάσεων σχηματίζουν τρεις δεσμούς υδρογόνου (έναντι δύο των ζευγών A-T) και όσοι περισσότεροι δεσμοί υδρογόνου τόσο δυσκολότερα (με μεγαλύτερη απαίτηση ενέργειας) σπάει το μόριο.
- ❖ Από το μήκος της δίκλωνης αλυσίδας.
- ❖ Από τη συγκέντρωση των αλάτων στην αλυσίδα.
- ❖ Άλλοι παράγοντες όπως η αλληλεπίδραση με τον διαλύτη.



Δύο βασικοί τύποι δίνουν την T_m ενός μορίου DNA:

- 1) Για μικρά μόρια DNA (με μήκος <25 db) έχουμε τον κανόνα του Wallace:

$$T_m = [(x_A + x_T) \cdot 2 + (x_C + x_G) \cdot 4] \quad ^\circ C$$

όπου x_A, x_T, x_C, x_G οι αριθμοί των A, T, C, G βάσεων στο μόριο.

- 2) Για μεγαλύτερα μόρια (σε τιμές pH: 5...9, γιατί σε χαμηλότερα pH δεν είναι βιώσιμη η dsDNA) έχουμε τον τύπο:

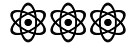
$$T_m = [16,6 \cdot \log_{10} [Na^+] + 0,41 \cdot (\%GC) + 81,5] \quad ^\circ C$$

όπου $[Na^+]$: η συγκέντρωση του διαλύματος σε ιόντα Na^+ , και (%GC): το ποσοστό – περιεκτικότητα του μορίου σε βάσεις G-C.

I. Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, μας λείπει μια συγκεκριμένη πληροφορία για να λύσουμε το πρόβλημα: *το μήκος των μορίων DNA*. Αν θεωρήσουμε ότι τα δύο μόρια DNA έχουν το ίδιο μήκος τότε το DNA του βακτηρίου, λόγω μεγαλύτερης συγκέντρωσης GC θα έχει περισσότερους δεσμούς υδρογόνου, άρα και μεγαλύτερη T_m . Γνωρίζουμε όμως ότι κατά κανόνα τα DNAs των ευκαρυωτών (όπως το θηλαστικό) είναι μεγαλύτερα από αυτά των προκαρυωτών (όπως το βακτήριο). Έτσι, μπορεί, το ποσοστό των GC στο DNA του βακτηρίου να είναι μεγαλύτερο αλλά τελικά, μπορεί, ο αριθμός των δεσμών υδρογόνου στο DNA του θηλαστικού να υπερβαίνει (λόγω μήκους) τον αντίστοιχο αριθμό στο DNA του βακτηρίου. Ίσως, λοιπόν, να έχουμε μεγαλύτερη T_m στο DNA του θηλαστικού. Φυσικά όλα τα παραπάνω ισχύουν με την προϋπόθεση να έχουμε και τις υπόλοιπες συνθήκες (pH, συγκεντρώσεις κατιόντων, κ.α.) κοινές στα δύο διαλύματα.

II. Γνωρίζουμε ότι όταν η θερμοκρασία πέσει κάτω από την τιμή T_m , τότε οι ssDNA αλυσίδες συνδέονται ξανά σε δίκλωνες έλικες (dsDNA). Αυτό θα συμβεί και στα διαλύματά μας. Τα DNAs θα επανενωθούν και θα δώσουν τις αρχικές δίκλωνες δομές του DNA του

βακτηρίου και του DNA του θηλαστικού. Όμως, αν υπάρχουν κοινές αλληλουχίες βάσεων στα δύο μονόκλιωνα DNAs (του βακτηρίου και του θηλαστικού) υπάρχει η πιθανότητα να ενωθούν και να δώσουν ένα υβριδικό DNA μόριο διπλής έλικας όπου ο ένας κλάδος θα είναι του βακτηρίου και ο άλλος του θηλαστικού.



Θέμα 1B

Συγκρίνετε την DNA πολυμεράση I και την RNA πολυμεράση από την E.coli ως προς τις παρακάτω ιδιότητες:

α. Δομή υπομονάδων,

β. ενεργοποιημένο πρόδρομο νουκλεοτίδιο,

γ. κατεύθυνση επιμήκυνσης,

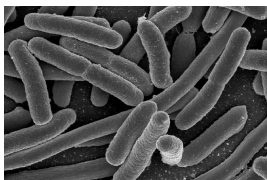
δ. ενεργότητα νουκλεάσης.

DNA Πολυμεράση I

Η DNA πολυμεράση I είναι ένα ένζυμο που επιμηκύνει την αλυσίδα του DNA σε κατεύθυνση 5'→3', προσθέτοντας κατάλληλα νουκλεοτίδια στο άκρο 3'. Καταλύει την αντίδραση $(DNA)_n + dNTP \Leftrightarrow (DNA)_{n+1} + PPi$, όπου dNTP: οποιοδήποτε τριφωσφορικό δεοξυριβονουκλεοτίδιο και PPi: πυροφωσφορική ομάδα. Κατευθύνεται από εκμαγείο (αλληλουχία DNA ή RNA) που οδηγεί τη σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλληλουχίας.

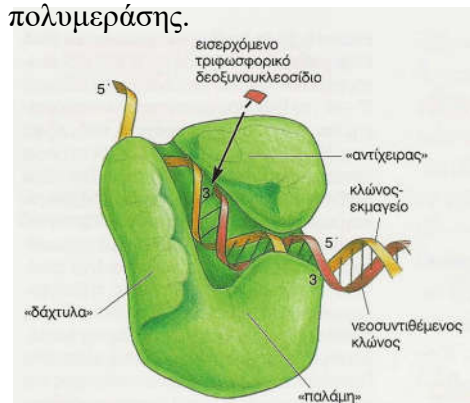
Έτσι συντίθεται μόνο ένας κλώνος DNA ενώ ο άλλος συντίθεται από την ίδια πολυμεράση με «πισωβελονιά» (backstitching): σε διαδοχικά, ασυνεχή μικρά τμήματα, από το 5' άκρο με κατεύθυνση 5'→3'. Τα τμήματα αυτά είναι γνωστά ως κλάσματα Okazaki. Ο πρώτος κλώνος ονομάζεται προπορευόμενος και ο δεύτερος καθυστερημένος (leading και lagging strand).

Παρόλο που η ποιότητα της αντιγραφής του DNA εξασφαλίζεται από την αρχή της συμπληρωματικότητας των βάσεων, η εξέταση διαφόρων κρυσταλλικών δομών των DNA πολυμερασών, έχουν δείξει ότι αυτές περιέχουν πολλούς επιπλέον μηχανισμούς βελτίωσης της ποιότητας αντιγραφής.



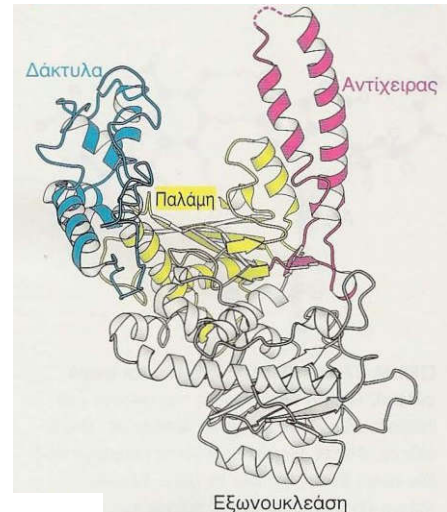
Η DNA πολυμεράση I ήταν η πρώτη ενζυμική δομή που προσδιορίστηκε. Συγκεκριμένα απομονώθηκε στο “θραύσμα του Klenow” του βακτηρίου E.coli που περιέχει δύο βασικά μέρη του πλήρους ενζύμου και την μονάδα της πολυμεράσης.

Η πολυμεράση μοιάζει με δεξί χέρι, με δομικές μονάδες που είναι γνωστές ως δάκτυλα, παλάμη και αντίχειρας. Οι δομικές περιοχές των δακτύλων και του αντίχειρα τυλίγονται γύρω από το DNA και το συγκρατούν κατά μήκος του ενεργού κέντρου του ενζύμου.



Το ένζυμο αποτελείται, κατά βάσει, από κατάλοιπα αμινοξέων της δομικής περιοχής της παλάμης.

Επίσης στο θραύσμα Klenow περιλαμβάνεται και ένας τομέας δραστηριότητας εξωνουκλεάσης 3'→5' που ευθύνεται για τον έλεγχο και τη διόρθωση του τελικού προϊόντος.



- Δράση ως 5' εξωνουκλεάση: υδρόλυση του εκκινητικού RNA του προηγούμενου κομματιού Okazaki
- Δράση ως πολυμεράση: συμπλήρωση κενού και επιμήκυνση του DNA του επομένου κομματιού Okazaki
- Δράση ελέγχου αντιγραφής: δράση ως 5' ή 3' εξωνουκλεάση: υδρόλυση του λάθους νουκλεοτιδίου και τοποθέτηση του σωστού
 - i. Δράση ως 5' εξωνουκλεάση: διάσπαση δεσμών σε δίκλωνη αλυσίδα
 - ii. Δράση ως 3' εξωνουκλεάση: διάσπαση δεσμών στο τελικό άκρο της συντιθέμενης αλυσίδας

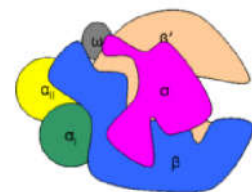


RNA Πολυμεράση

Η RNA πολυμεράση της E.coli είναι ένα πολύ μεγάλο (περίπου 400 kd μοριακή μάζα) πολυσύνθετο ένζυμο. Παράγει RNA χρησιμοποιώντας τα γονίδια του DNA ως πρότυπα (μεταγραφή).

Αποτελείται από 4 είδη υπομονάδων με σύσταση $\alpha_2\beta\beta'\sigma$. Κατά σειρά μεγέθους:

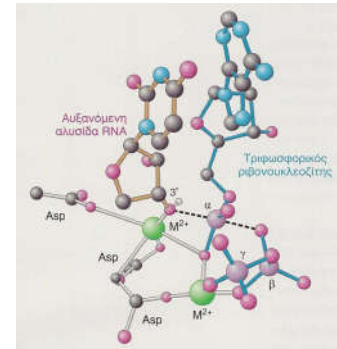
- ❖ β' υπομονάδα: περιέχει μέρος του ενεργού κέντρου και άλλους παράγοντες που είναι καθοριστικοί για τις αλληλεπιδράσεις DNA-RNA
- ❖ β υπομονάδα: περιέχει το υπόλοιπο ενεργό μέρος και τους υπόλοιπους καθοριστικούς παράγοντες για τις αλληλεπιδράσεις DNA-RNA



❖ α υπομονάδα: δύο τμήματα, τα α^I και α^{II} . Καθένα από αυτά περιέχει δύο τομείς: τον α NTP (που περιέχει τους καθοριστικούς παράγοντες για τη σύνθεση του RNA και τον α CTD που περιέχει τους καθοριστικούς παράγοντες για την αλληλεπίδραση με το προάγων DNA.

❖ σ υπομονάδα: διευκόλυνση στη συναρμολόγηση και σταθεροποίηση του RNAP.

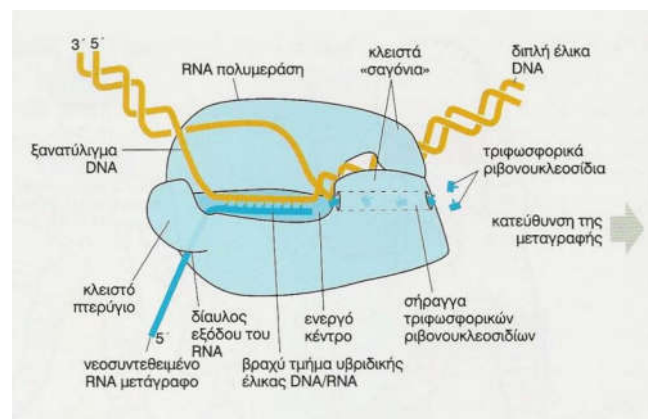
Ονομάζουμε πυρήνα του ενζύμου το τμήμα $\alpha_2\beta\beta'$ και εκεί περιέχεται το καταλυτικό κέντρο, το οποίο μοιάζει με αυτό της DNA πολυμεράσης (στη δραστική του περιοχή περιέχει δύο μεταλλικά ιόντα).



Οι συνολικές δομές DNA & RNA πολυμεράσης είναι τελείως διαφορετικές. Τα παρόμοια ενεργά κέντρα είναι προϊόντα συγκλίνουσας εξέλιξης.

Η RNA πολυμεράση προσδένεται χαλαρά στο DNA. Η σ αλυσίδα αναγνωρίζει τον «υποκινητή», περιοχή 40-100 βάσεων πριν το σημείο έναρξης της μεταγραφής. Μετά την αναγνώριση, η RNA πολυμεράση συνδέεται ισχυρότερα στο DNA, αποδιατάσει την δίκλωνη αλυσίδα, απομακρύνεται η σ αλυσίδα και ξεκινάει η μεταγραφή.

Κατεύθυνση της μεταγραφής του RNA είναι επίσης η $5' \rightarrow 3'$ με αποδιάταξη και επαναδιάταξη του DNA κατά τη φορά της μεταγραφής. Κατά τη διαδικασία αυτή, μόνο μικρό μέρος του DNA είναι αποδιατεταγμένο, ενώ παράλληλα ο ένας κλώνος είναι υβριδικά συνδεδεμένος με το RNA.



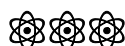
Η απελευθέρωση του RNA από το DNA, ενώ βρίσκεται σε εξέλιξη η σύνθεσή του, μας δίνει μεγάλη παραγωγή αντιγράφων RNA σε σχετικά μικρό χρόνο. Η σύνθεση κάθε επόμενου RNA ξεκινάει πριν από την ολοκλήρωση του προηγούμενου. Έτσι ένα μέτριο γονίδιο (1500 περίπου ζευγών νουκλεοτιδίων) μεταγράφεται από μια RNA πολυμεράση σε περίπου 50 sec.

Η RNA πολυμεράση δεν έχει δραστικότητα νουκλεάσης. Αντίθετα με την DNA πολυμεράση, δεν διορθώνει τη νεοσυντιθέμενη πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα. Άρα η πιστότητα της μεταγραφής είναι αρκετά μικρότερη από αυτήν της αντιγραφής (συχνότητα σφάλματος σύνθεσης RNA= 1 λάθος/10⁴ νουκλεοτίδια, συχνότητα σφάλματος σύνθεσης DNA= 1 λάθος/10⁷ νουκλεοτίδια). Η μικρή πιστότητα στη σύνθεση του RNA είναι ανεκτή γιατί δεν μεταβιβάζεται στους απογόνους.



➤ Συνοπτικά, συγκρίνοντας τις δύο πολυμεράσες έχουμε:

<u>DNA Πολυμεράση I</u>	<u>RNA Πολυμεράση</u>
Καταλύουν ουσιαστικά την ίδια αντίδραση	
Καταλύει τη σύνδεση δεοξυριβονουκλεοτιδίων	Καταλύει τη σύνδεση ριβονουκλεοτιδίων
Ενεργοποιημένα πρόδρομα νουκλεοτίδια:	
Τριφωσφορικά-5'-δεοξυνουκλεοτίδια (dATP, dTTP, dGTP, dCTP)	Τριφωσφορικοί ριβονουκλεοζίτες (ATP, UTP, GTP, CTP)
Ανάγκη εκκινητή για την αντιγραφή του DNA	Μη ανάγκη εκκινητή για την μεταγραφή του RNA
Ακριβής αντιγραφή (1:10 ⁷)	Μη ακριβής μεταγραφή (1:10 ⁴)
Κατεύθυνση σύνθεσης: 5'→3'	
Επιμήκυνση μόνο προϋπάρχουσας αλυσίδας DNA	Επιμήκυνση ή εξ αρχής σύνθεση RNA
Ελεγκτική και διορθωτική ικανότητα νουκλεάσης •Σπάει φωσφοδιεστερικούς δεσμούς	Όχι •Δεν σπάει φωσφοδιεστερικούς δεσμούς
Δεν ξετυλίγει την διπλή έλικα •Δεν σπάει δεσμούς υδρογόνου	Ξετυλίγει την διπλή έλικα •Σπάει δεσμούς υδρογόνου
Δομή: αντίχειρας-παλάμη-δείκτης	Δομή: α ₂ ββ'σ

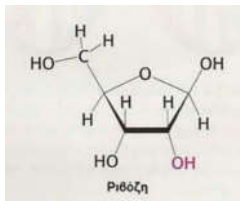
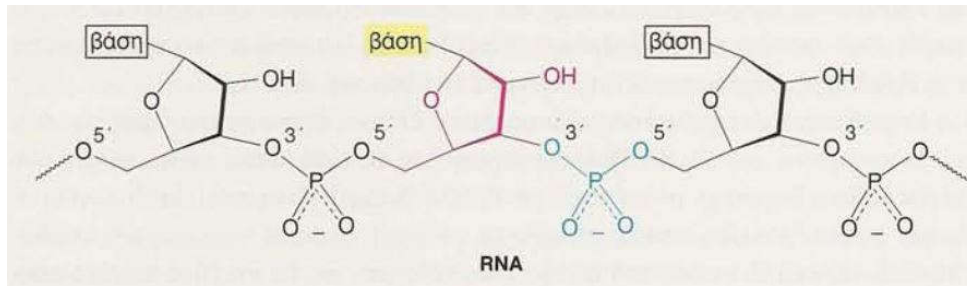


Θέμα 2

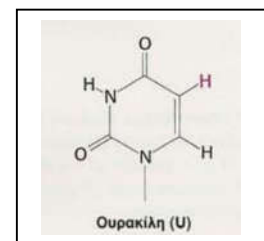
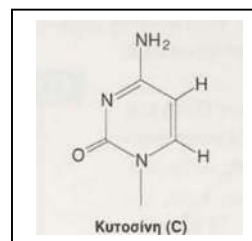
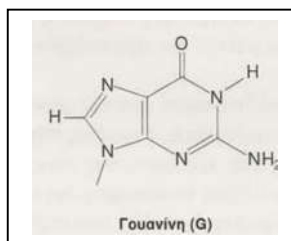
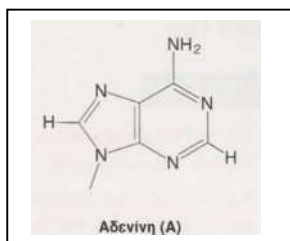
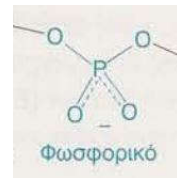
Είδη RNAs: Βιοσύνθεση και ρόλος και χρήσεις τους στις βιοεπιστήμες. Να γίνει και σχέδιο μαθήματος για μαθητές της Γ' Λυκείου.

Ένα πολύ σημαντικό νουκλεϊκό οξύ (εκτός του DNA) είναι το RNA: ribonucleic acid – ριβονουκλεϊκό οξύ. Η σημασία του στους ιούς είναι ότι αποτελεί το γενετικό τους υλικό, ενώ σε οργανισμούς που το γενετικό τους υλικό είναι το DNA, η σημασία του RNA είναι πως οι γενετικές πληροφορίες μετατρέπονται σε RNA ώστε να καταστούν λειτουργικές ή προσβάσιμες.

Η γενική του δομή: είναι γραμμικό πολυμερές, αποτελούμενο από επαναλαμβανόμενα μονομερή νουκλεοτίδια ενωμένα με 3'→5' φωσφοδιεστερικούς δεσμούς¹.



Κάθε μονομερές αποτελείται από ένα σάκχαρο, τη ριβόζη, ένα φωσφορικό ανιόν και μια βάση μεταξύ τεσσάρων εναλλακτικών: Αδενίνης (A), Γουανίνης (G), Κυτοσίνης (C) και Ουρακίλης (U).



Το RNA είναι συνήθως μονόκλωνο (σε αντίθεση με το δίκλωνο DNA). Υπάρχουν περιπτώσεις δίκλωνων τμημάτων του RNA με ζευγαρώματα βάσεων: A-U & C-G. Το ζευγάρωμα αυτό δίνει πολύπλοκες RNA δομές με σύνθετες δραστηριότητες (όπως η κατάλυση).

Τρεις είναι οι βασικοί ρόλοι του RNA στο κύτταρο:

A) μεταφορά των γενετικών πληροφοριών από το DNA στις πρωτεΐνες: αντιγραφή του DNA σε mRNA (αγγελιοφόρο) και μετάφραση του mRNA σε πρωτεΐνη.

B) λειτουργεί ως προσαρμοστής, μεταφράζοντας πληροφορίες στην αλληλουχία νουκλεοτιδίων του mRNA σε άλλες πληροφορίες καθορισμού των αλληλουχιών των πρωτεϊνικών συστατικών.

Γ) αποτελούν σημαντικά δομικά συστατικά των ριβοσωμάτων και καθορίζουν την διαδικασία της μετάφρασης.

Ο συνδιασμός όλων των παραπάνω μας δείχνει ότι το RNA έπαιξε σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της ζωής μέσα στον χρόνο².

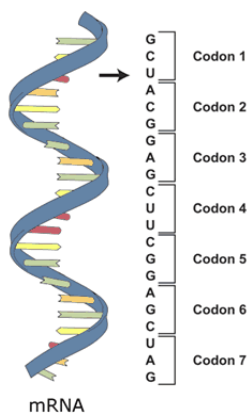
Υπάρχουν πολλά διαφορετικά είδη RNAs στο ανθρώπινο γονιδίωμα³. Αυτά χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: α) τα κωδικά (coding) RNAs (που είναι το mRNA) και μεταφράζονται σε πρωτεΐνες και β) τα μη κωδικά (non coding) RNAs (όλα τα υπόλοιπα) που δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνες:

- mRNA (messenger, αγγελιοφόρο): μεταφέρει την πληροφορία της πρωτεϊνοσύνθεσης από το DNA (πυρήνας) στα ριβοσώματα (κυτταρόπλασμα)
- rRNA (ribosomal, ριβοσωμικό): μέσα στα ριβοσώματα, πρωτεϊνοσύνθεση (δομικός και καταλυτικός ρόλος)
- tRNA (transfer, μεταφέρων): μεταφορά αμινοξέων στα ριβοσώματα, τα οποία θα ενωθούν στις πρωτεΐνες
- hnRNA (nuclear heterogeneous, πυρηνικό ετερογενές): περιέχει όλες τις πρόδρομες μορφές του RNA⁴
- snRNA (small nuclear, μικρό πυρηνικό): σύνδεση με πρωτεΐνες και σχηματισμός μικρών ριβονουκλεοπρωτεϊνικών σωματιδίων που καταλύουν την ωρίμανση του mRNA⁵
- snoRNA (mικρό πυρηνισκικό): τροποποιήσεις RNA
- TR RNA (τελομεράση): σύνθεση των άκρων των χρωμοσωμάτων
- miRNA (mίκρο): σταθερότητα και έλεγχος της μετάφρασης
- siRNA: αποκοδόμηση RNA
- rasiRNA, piRNA, natsiRNA, eRNA, PATs RNA, IncRNA, SRP RNA, tmRNA, crRNA, guide RNA^{6,7}

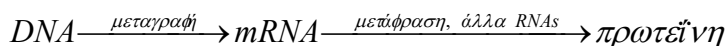
Ας τα δούμε αναλυτικά ορισμένα από αυτά...

mRNA

Messenger – Αγγελιοφόρο RNA: μεταφέρει τις πληροφορίες από το DNA στα ριβοσώματα ώστε να γίνει η σύνθεση των πρωτεϊνών. Η αλληλουχία των βάσεων του DNA μεταφέρεται ως αλληλουχία βάσεων στο RNA⁸ και από εκεί μεταφράζεται σε αλληλουχία αμινοξέων της πρωτεΐνης που παράγεται.



Σύμφωνα με τον γενετικό κώδικα, ένα κωδικόνιο (τρία νουκλεοτίδια) αντιστοιχεί σε ένα αμινοξύ. Τα mRNAs είναι οι φορείς των πληροφοριών στον τόπο πρωτεϊνοσύνθεσης (στα ριβοσώματα) ενώ την ίδια την πρωτεϊνοσύνθεση την αναλαμβάνουν τα tRNAs και rRNAs. Συντίθεται από RNA πολυμεράσες που καθοδηγούνται από εκμαγεία DNA. Η ροή της γενετικής πληροφορίας (γονιδιακή έκφραση) είναι⁹:



Το mRNA που έχει μεταγραφεί από DNA, ονομάζεται πρόδρομο mRNA (pre-mRNA) και στη συνέχεια υποβάλλεται σε διαδικασία αφαίρεσης μη κωδικοποιημένων αλληλουχιών που ονομάζονται εσώνια, ώστε να προκύψει το ώριμο mRNA¹⁰.

Στη συνέχεια το ώριμο mRNA βγαίνει από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα, όπου ακολουθεί την πορεία που προαναφέραμε. Όταν δεν υπάρχει πυρήνας, δηλαδή στα προκαρυωτικά κύτταρα, το mRNA συνδέεται στα ριβοσώματα ενώ μεταγράφεται από το DNA¹¹.

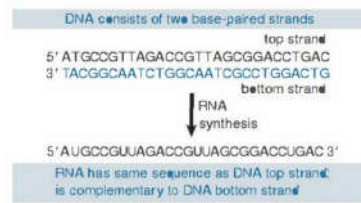


FIGURE 2.13 RNA is synthesized by using one strand of DNA as a template for complementary base pairing.

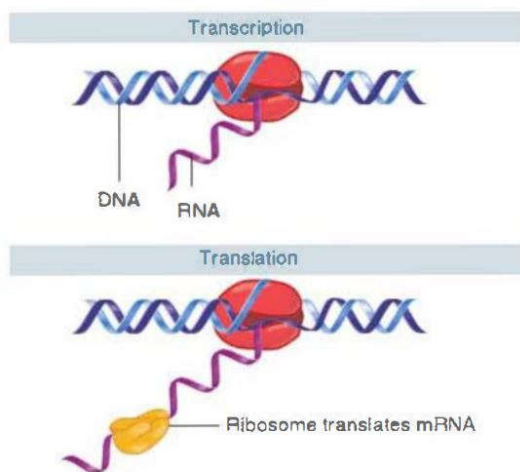


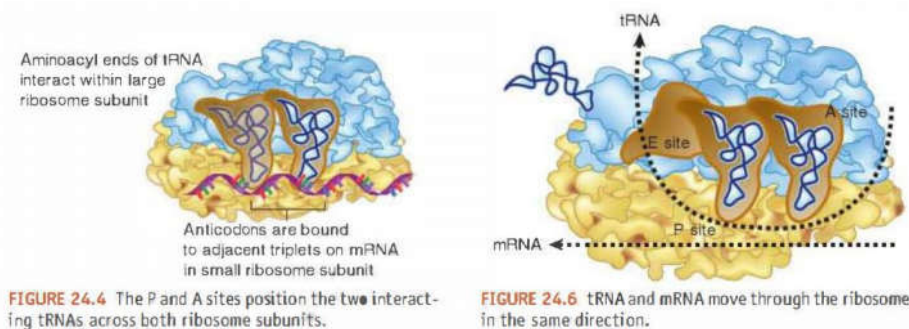
FIGURE 2.15 Transcription and translation take place in the same compartment in bacteria.

tRNA

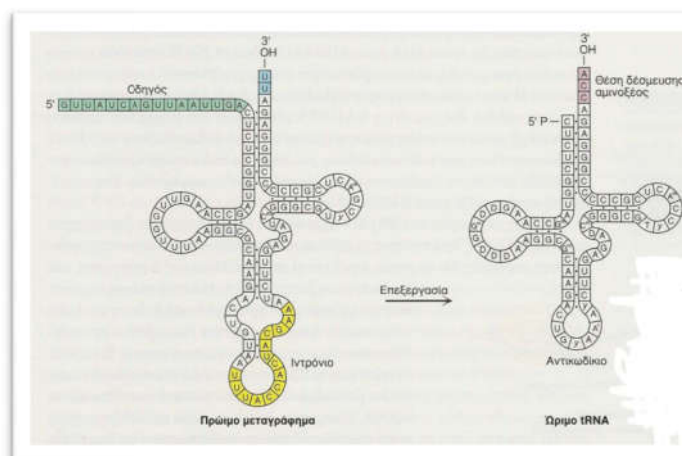
Transfer – Μεταφορικό RNA: μικρή αλυσίδα, περίπου 80 νουκλεοτιδίων, που μεταφέρει κάποιο (συγκεκριμένο) αμινοξύ σε μια αναπτυσσόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα του ριβοσώματος όπου γίνεται η πρωτεϊνική σύνθεση (μετάφραση). Η σύνδεση του tRNA με το αμινοξύ γίνεται με ειδικά ένζυμα που ονομάζονται αμινοκυκλοRNAσυνθετάσες¹².

Το tRNA έχει τρεις δομές: πρωτοταγής, δευτεροταγής και τριτοταγής, όλες τρισδιάστατες, σχήματος L που χωράνε στις A και P θέσεις του ριβοσώματος.

Το tRNA στο ένα άκρο του ταιριάζει με τον γενετικό κώδικα σε μια αλληλουχία τριών νουκλεοτιδίων, που ονομάζεται αντικωδικόνιο. Το αντικωδικόνιο αυτό, σχηματίζει 3 ζεύγη βάσεων με το αντίστοιχο κωδικόνιο του mRNA κατά την πρωτεϊνική σύνθεση. Η κωδικοποίηση της πρωτεΐνης από το mRNA γίνεται με μια σειρά από συνεχόμενα κωδικόνια τα οποία αναγνωρίζονται από το συγκεκριμένο tRNA. Το άλλο άκρο του tRNA είναι ενωμένο στο αμινοξύ που αντιστοιχεί στην αλληλουχία του αντικωδικονίου¹³.



Επειδή κάθε tRNA μπορεί να συνδεθεί μόνο με έναν τύπο αμινοξέος, υπάρχουν πολλοί τύποι tRNA στον οργανισμό. Στα περισσότερα κύτταρα υπάρχουν 40-50 τύποι. Όλα προέρχονται από πρόδρομα μόρια με ενζυμική αφαίρεση νουκλεοτιδίων στο 5' και στο 3' άκρο. Από το 5' άκρο αφαιρεί μια ενδονουκλεάση και το 3' άκρο τροποποιείται από μια εξωνουκλεάση. Συγκεκριμένα η επεξεργασία – ωρίμανση του tRNA περιλαμβάνει αφαίρεση του **ιντρονίου** (14 νουκλεοτιδία), απομάκρυνση **νουκλεοτιδίων** από το 5' άκρο και αντικατάσταση των **UU** με **CCA** στο 3' άκρο, όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα¹⁴:



rRNA

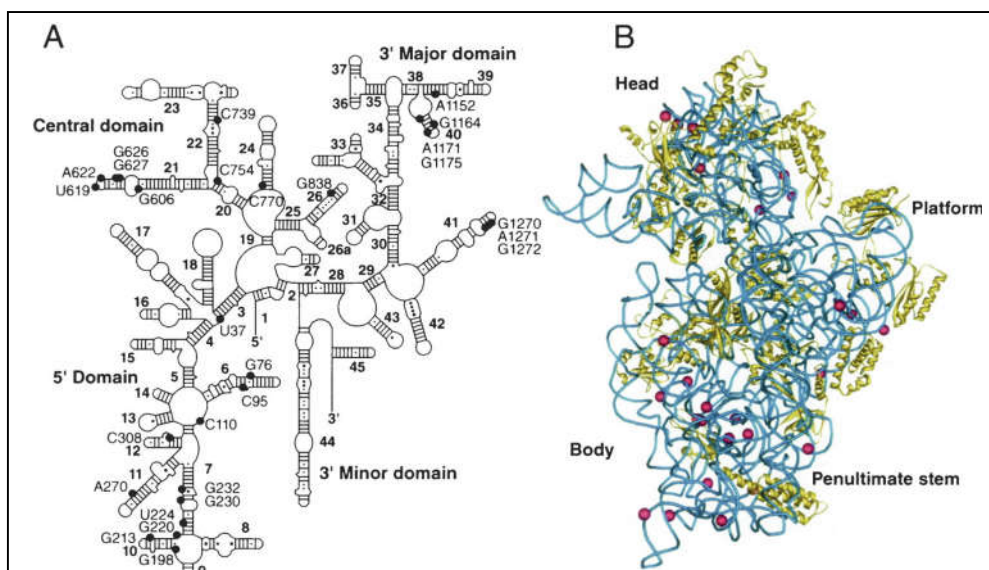
Ribosomal – Ριβοσωμικό RNA: είναι ένα μόριο στο ριβόσωμα που καταλύει το σχηματισμό του πεπτιδικού δεσμού μεταξύ δύο μορίων tRNA με προσαρτημένα αμινοξέα: το ένα tRNA χωρίς το αμινοξύ ή την πολυπεπτιδική αλυσίδα ενώ το άλλο tRNA με το αμινοξύ δεσμεύεται στο ριβόσωμα¹⁵.

Τα rRNAs και tRNAs αποτελούν μέρος της «μηχανής της πρωτεϊνσύνθεσης». Συντίθενται από τα ένζυμα RNA πολυμεράσες που καθοδηγούνται από τα εκμαγεία του DNA⁹.

Τα ριβοσώματα των ευκαρυωτικών κυττάρων περιέχουν 4 διαφορετικά μόρια rRNA, τα 5S, 5.8S, 18S και 28S. Ο συνδυασμός rRNA και πρωτεϊνών δίνει το ριβόσωμα, μια νουκλεοπρωτεΐνη. Το ριβόσωμα δεσμεύεται από το mRNA και έτσι πραγματοποιείται η πρωτεϊνσύνθεση. Σε ένα μόριο mRNA μπορούν να συνδεθούν ταυτόχρονα πολλά ριβοσώματα. Το mRNA “στριμώνχεται” ανάμεσα στη μεγάλη (LSU) και στη μικρή (SSU) υπομονάδα του rRNA και έτσι το ριβόσωμα βοηθάει καταλυτικά στη δημιουργία ενός πεπτιδικού δεσμού μεταξύ δύο αμινοξέων¹⁶.

Αρχικά οι επιστήμονες πιστεύανε ότι η πρωτεϊνσύνθεση διευθύνονταν από τις ριβοσωμικές πρωτεΐνες και ότι το rRNA είχε ως κύριο ρόλο να λειτουργεί ως «δομική σκαλωσιά». Σήμερα πιστεύεται το ακριβώς αντίθετο: μετά την ανακάλυψη του καταλυτικού RNA πιστεύεται ότι το RNA παίζει ενεργό ρόλο στη ριβοσωμική λειτουργία. Σημαντικές – κομβικές θέσεις μέσα στο ριβόσωμα, αποτελούνται σχεδόν αποκλειστικά από RNA. Οι πρωτεΐνες από την άλλη συμβάλουν ελάχιστα¹⁷.

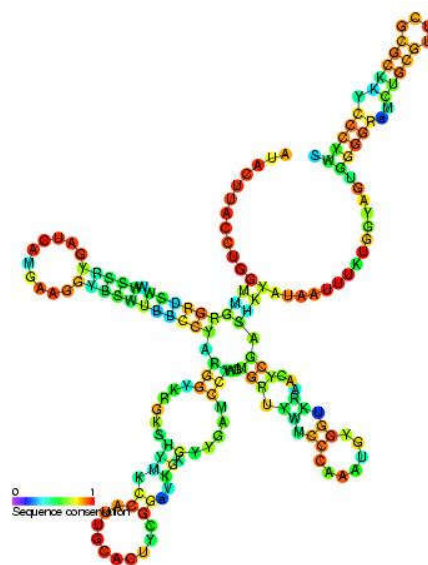
Το rRNA επίσης, αποτελεί περίπου το 80% του RNA των προκαρυωτικών κυττάρων, με το tRNA να είναι περίπου το 15% και το mRNA το υπόλοιπο 5%. Τα υπόλοιπα είδη RNAs καταλαμβάνουν μικρά ποσοστιαία κλάσματα του 100% του κυτταρικού RNA³.



snRNA

Small Nuclear – Μικρό Πυρηνικό RNA:

είναι πολλά είδη μικρών RNA (με λιγότερα από 300 νουκλεοτίδια). Συμβολίζονται με U1, U2, ... U6 και παίζουν ρόλο στο μάτισμα των πρόδρομων mRNAs. Συνδέονται σε ειδικές πρωτεΐνες σχηματίζοντας σύμπλοκα, τα ονομαζόμενα ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια (snRNP), γνωστά και ως snurps¹⁸. Η βιοσυνθετική διαδικασία για την παραγωγή του snRNA περιλαμβάνει τα εξής στάδια:



- η RNA πολυμεράση II μεταγράφει τα U1, U2, U4, U5 (και τα U11, U12, U4atac)
- οι Sm πρωτεΐνες συντίθενται (από ριβοσώματα) μεταφράζοντας Sm mRNA και αποθηκεύονται στο κυτταρόπλασμα ως κυκλικά σύμπλοκα συνδεδεμένα με pICln πρωτεΐνη
- τα snRNAs αλληλεπιδρούν με την SMN πρωτεΐνη και την Gemins 2-6 (σύμπλοκο SMN)
- τα snRNPs συντίθενται στον πυρήνα^{19,20,21}.

Τα snRNAs απομακρύνουν τα εσώνια από το pre-mRNA. Καθοδηγούν την ευθυγράμμιση των θέσεων μάτισματος και παίρνουν μέρος στην κατάλυση. Επίσης οι RNA ελικάσες, μέσω της υδρόλυσης ATP, ξετυλίγουν ενδιάμεσα RNAs και έτσι διευκολύνεται η κατάλυση και απελευθερώνονται μόρια snRNP από το mRNA²².

Μια χρήση του snRNA είναι η παραγωγή αυτοαντισωμάτων κατά των snRNPs του ίδιου του σώματος. Αναφερόμαστε κυρίως σε anti-Sm που στοχεύουν την πρωτεΐνη Sm (περίπτωση συστηματικού ερυθματώδη λύκου²³).

snoRNA

Small Nucleolar – Μικρό Πυρηνισκικό RNA: τροποποιεί το pre-rRNA στις λειτουργικές του υπομονάδες 5.8S, 18S, 28S. Πολλά snoRNAs είναι αποτέλεσμα της τροποποίησης κάποιων ιντρονίων²⁴. Πάνω από 200 διαφορετικά snoRNAs έχουν αναγνωρισθεί στα θηλαστικά. Στην πλειοψηφία τους παίρνουν μέρος στη μεθυλίωση –box C/D– ή στην ψευδοουριδυλίωση –box H/ACA– των rRNAs²⁵. Κάθε snoRNA λειτουργεί ως οδηγός για μία ή δύο τροποποιήσεις του RNA-στόχου. Με τη σύνδεση του snoRNA στο σημείο του στόχου, οι πρωτεΐνες αποκτούν τη σωστή θέση για την κάλυψη της τροποποίησης της “στοχευμένης” βάσης.

Τα snoRNAs μπορούν να λειτουργήσουν και ως miRNAs²⁶. Επίσης μπορούν να έχουν και λειτουργίες άσχετες με τα rRNAs. Ένα τέτοιο παράδειγμα αποτελεί η ρύθμιση στο εναλλακτικό μάτισμα της trans γονιδιακής μεταγραφής, η οποία γίνεται από το snoRNA HBII-52²⁷. Η απώλεια του HBII-52 σχετίζεται με τα αίτια των συνδρόμων Prader-Willi και Angelman. Ο συσχετισμός οφείλεται στο μη κανονικό μάτισμα του mRNA του υποδοχέα της σεροτονίνης²⁸.

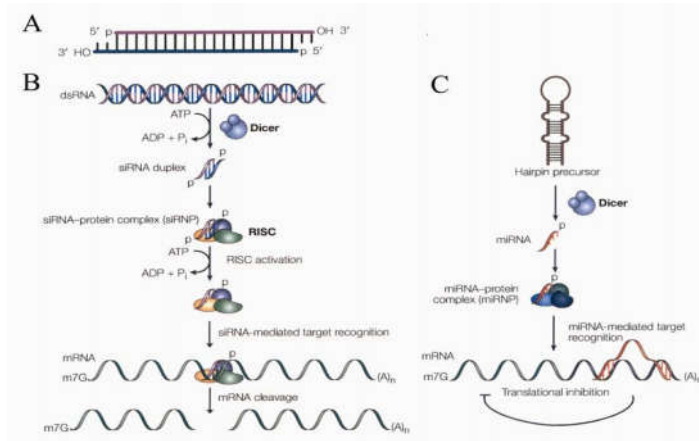
miRNA

Micro – Μικρό RNA: με μήκος 22 έως 24 νουκλεοτιδίων, αναστέλλουν την έκφραση των γονιδίων με την πρόσδεσή τους σε mRNAs και τελικά έχουμε αναστολή της μετάφρασης των mRNAs σε πρωτεΐνες.

Τα πρώτα miRNAs ανακαλυφθήκαν στον οργανισμό *C.elegans* (νηματοσκώληκας) ως αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης μεταξύ του ρυθμιστικού γονιδίου *lin4* και του target γονιδίου *lin14*²⁹.



Τα miRNAs δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Αντιθέτως αναγνωρίζουν και στοχεύουν συγκεκριμένα mRNAs μειώνοντας την έκφραση των γονιδίων τους.



Το 2-3% του γονιδιώματος του ανθρώπου κωδικοποιεί miRNAs. Η μεταγραφή γίνεται από την RNA πολυμεράση II. Τα μετάγραφα είναι μεγάλα σε μέγεθος, είναι πολυαδενυλιωμένα και διαθέτουν 5' μεθυλογουανίνη. Ονομάζονται pri-miRNAs.

Στη συνέχεια η παραγωγή ώριμων miRNAs προκύπτει από ενζυμική κατεργασία δύο σταδίων: α) μέσα στον πυρήνα του ενζύμου Droscha με παραγωγή pre-miRNAs (60-70 bp), β) τα pre-miRNAs βγαίνουν από τον πυρήνα και παράγονται miRNAs (20 bp) με πέψη από την νουκλεάση Dicer^{30,31}.

Τα miRNAs είναι τελικά δίκλιωνα RNAs. Η μια αλυσίδα είναι συμπληρωματική με τμήμα της 3' του target mRNA που ενσωματώνεται σε ένα πρωτεϊνικό σύμπλοκο (RISC: RNA Induced Silencing Complex). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη “σίγαση” του γονιδίου και την αποικοδόμηση του target mRNA ή την αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης³².

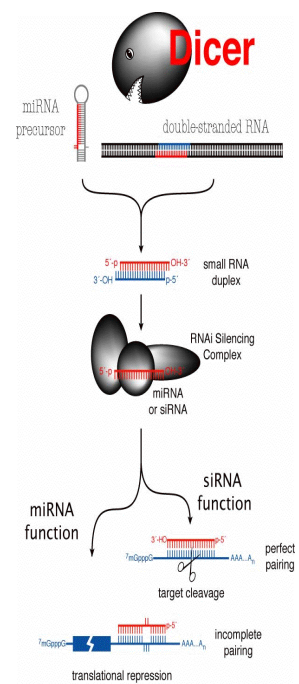
Ο ρόλος των miRNAs είναι η ρύθμιση των γονιδίων. Γι' αυτό και ένα miRNA είναι συμπληρωματικό σε ένα τμήμα ενός mRNA (ή περισσότερων). Τα miRNAs παίζουν ρόλο στην αρνητική ρύθμιση (υποβάθμιση / απομόνωση / καταστολή κατά την μεταγραφή). Υπό έρευνα είναι το αν παίζουν ρόλο και στη θετική ρύθμιση (ενεργοποίηση μεταγραφής / μετάφρασης)³³.

Πολλές θεραπείες ασθενειών που πιθανώς σχετίζονται με τα miRNAs βρίσκονται σε εξέλιξη. Τα miRNAs θεωρείται ότι σχετίζονται με ορισμένους τύπους καρκίνων, με την παχυσαρκία, με τη ρύθμιση του νευρικού συστήματος, με κληρονομικές ασθένειες και με καρδιακές παθήσεις.

siRNA

Small Interfering – Μικρό Παρεμβαλλόμενο RNA: δίκλιωνο μικρό μόριο RNA με μήκος περίπου 20-25 νουκλεοτίδια³⁴. Η παραγωγή των siRNAs καταλύεται επίσης από το ένζυμο Dicer. Η κατάλυση γίνεται από μακρύ dsRNA (δίκλιωνο RNA) και μικρή φουρκέτα RNA³⁵.

Τα siRNAs χρησιμοποιούνται ως «όργανα» αδρανοποίησης ειδικών γονιδίων³⁶ (καταστολή γονιδιακής έκφρασης). Επίσης παρεμβαίνει στη διαδρομή της RNA-παρέμβασης (RNAi) με την έκφραση ειδικών γονιδίων με τη συμπληρωματική νουκλεοτιδική αλληλουχία. Επιδρά επιπλέον στις πορείες της RNAi ως αρνητικός μηχανισμός, ως διαμορφωτής της χρωματικής δομής του γονιδίου, κ.α. Πιθανολογείται η θεραπευτική εφαρμογή των siRNAs. Μέσω του μηχανισμού της RNAi, τα siRNAs εικάζεται ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την καταστολή επιλεγμένων γονιδίων (υπεύθυνων για κάποιες ασθένειες)³⁴.



nastiRNA

Natural Antisense Short Interfering – Φυσικό Αντινοσηματικό Μικρό RNA Παρέμβασης: πρόκειται για έναν τύπο το siRNA. Είναι ενδογενείς ρυθμιστές RNA με μήκος 21-24 db. Συντίθεται από συμπληρωματικές μεταγραφές mRNA που καταλήγουν σε siRNA³⁷.

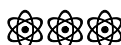
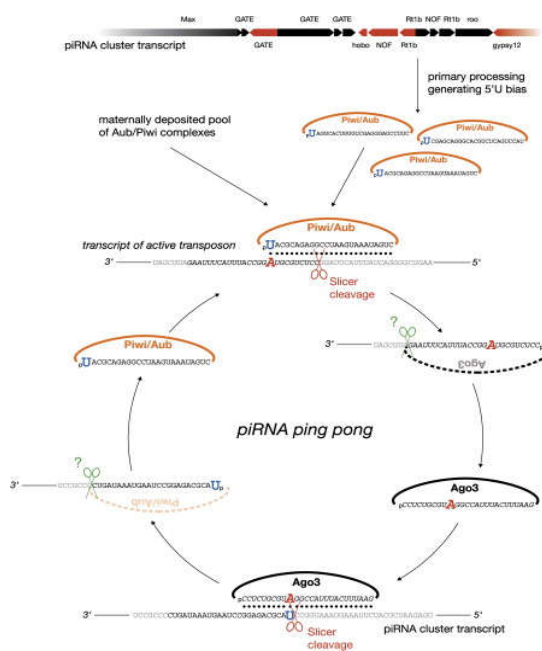
piRNA

piwi Interacting – piwi Αλληλεπιδρών RNA: πρόκειται για μια μεγάλη ομάδα ncRNAs μικρού μεγέθους (σε ζωικά κύτταρα)³⁸.



Πιθανός τρόπος παραγωγής των piRNAs είναι ο ονομαζόμενος μηχανισμός ping-pong: τα piRNAs αναγνωρίζουν τους συμπληρωματικούς στόχους και έτσι προκαλούν τη σύλληψη της πρωτεΐνης piwi³⁹.

Ο ρόλος τους είναι η αδρανοποίηση γονιδίων και συγκεκριμένα η φίμωση των μεταθετών (σχηματισμός του συμπλόκου RISC). Αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες piwi που δρουν στους όρχεις των θηλαστικών (σπερματογένεση)⁴⁰ και σχετίζονται με την ανάπτυξη βλαστικών και γεννητικών κυττάρων των ασπόνδυλων.



Αντί Προλόγου: παρακάτω θα δείτε το σχέδιο μαθήματος ενός Φυσικού (ΠΕ04.01) που δεν έχει διδάξει ΠΟΤΕ Βιολογία στην Γ' Λυκείου και ΠΟΤΕ ΔΕΝ πρόκειται να διδάξει, αφού το Ελληνικό Κράτος του το απαγορεύει!

➤ **Διδακτική Ενότητα:** RNA: βιοσύνθεση / ρόλος / χρήσεις

➤ **Στόχοι:** μετά την ολοκλήρωση της διδασκαλίας της ενότητας, οι μαθητές θα πρέπει να είναι σε θέση να:

- i. περιγράφουν τη δομή του RNA
- ii. αναγνωρίζουν τις βασικές διαφορές και ομοιότητές του με το DNA
- iii. αναφέρουν τις σημαντικότερες λειτουργίες του
- iv. διαχωρίζουν την ύπαρξη δύο μεγάλων κατηγοριών (cRNAs, ncRNAs)
- v. αναφέρουν τα κυριότερα ncRNAs
- vi. διαχωρίζουν τους ρόλους που επιτελεί κάθε είδος RNA
- vii. διαχωρίζουν τις χρήσεις του καθενός είδους RNA
- viii. κατανοήσουν ότι η οικογένεια RNA δεν έχει “κλείσει” ακόμη και πως η σύγχρονη έρευνα διαρκώς προσθέτει νέα μέλη.

➤ **Εκτιμώμενος χρόνος:** 2 – 4 διδακτικές ώρες

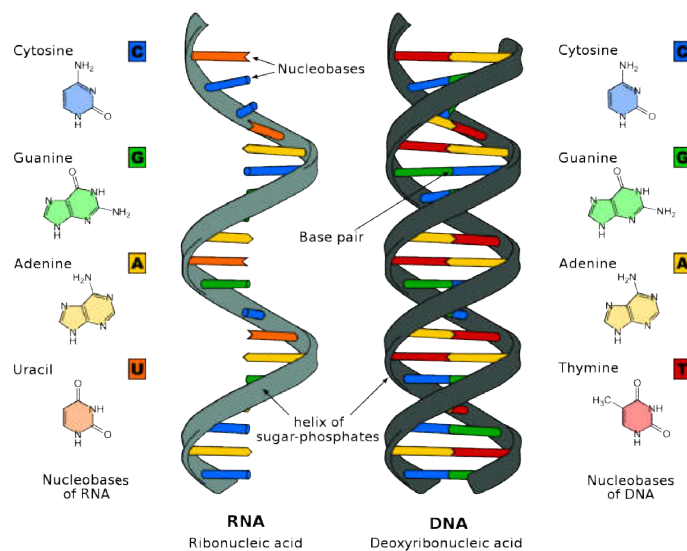
➤ **Υλικοτεχνική Υποδομή:** ιδανικό είναι το μάθημα να γίνει στο εργαστήριο φυσικών επιστημών, ώστε να είναι δυνατή η χρήση του Η/Υ, του διαδικτύου (για προσομοιώσεις και βίντεο) και του προτζέκτορα προβολής. Η χρήση μοντέλων ατόμων (kit με σφαιρίδια και ράβδους, για την κατασκευή των δομικών μονάδων του RNA: ριβόζη, φωσφορικό, βάσεις A,G,C,U) ή του μοντέλου του DNA (ώστε να επιδειχθεί το αντίστοιχο κομμάτι του RNA) είναι επίσης ευπρόσδεκτη.

➤ **Προσδοκώμενα αποτελέσματα:** προφανώς(!) η επίτευξη των στόχων είναι τα προσδοκώμενα αποτελέσματα. Ένας τρόπος ελέγχου είναι φυσικά η εξέταση, ένας άλλος το πρόχειρο test ή το προειδοποιημένο διαγώνισμα. Όμως ένας αρκετά καλός (και δοκιμασμένος) τρόπος είναι τα μικρά test ανατροφοδότησης μαθήματος: πρόκειται για ολιγόλεπτα (το πολύ 5-λεπτα) test με ερωτήσεις κλειστού τύπου (πολλαπλής επιλογής,

συμπλήρωσης , αντιστοίχισης και σωστού – λάθους) που δίνονται στους μαθητές ακριβώς πριν το τέλος της διδακτικής ώρας. Με τη σημείωση ότι είναι δεν βαθμολογούνται, οι μαθητές ελέγχουν την προσοχή και κατανόησή τους στο μάθημα και φυσικά ελέγχεται και η δικιά μας απόδοση ως προς τη διδασκαλία.

► Πορεία Διδασκαλίας:

- ξεκινάμε προβάλλοντας στην οθόνη μια εικόνα σαν την επόμενη, που πήραμε από το διαδίκτυο αναζητώντας εικόνες με τίτλο: “DNA vs RNA”.



Τα χρώματα είναι αρκετά έντονα και έτσι το ενδιαφέρον των μαθητών επικεντρώνεται ευκολότερα. Ζητάμε από τους μαθητές να περιγράψουν το RNA (συγκρίνοντάς το με το DNA που έχουν διδαχθεί τις προηγούμενες ημέρες).

- Διευκρινίζουμε τα δομικά χαρακτηριστικά με έμφαση στις έννοιες “μονόκλωνο”, “ριβόζη”, “ουρακίλη”.
- Εδώ είναι χρήσιμο να έχουμε φτιάξει με τα σφαιρίδια και τις ράβδους, μοντέλα όλων των δομικών μονάδων του RNA (γιατί όπως και να το κάνουμε το live είναι καλύτερο από την εικόνα...)
- Στη συνέχεια ξεκινάμε με τον διαχωρισμό των cRNAs (δηλαδή του mRNA) από τα ncRNAs.
- Εξηγούμε τη λειτουργία του mRNA δίνοντας έμφαση στον ρόλο του για τη διαβίβαση της γενετικής πληροφορίας, ρόλο που πολλοί πιστεύουν ότι κατέχει το



DNA. Έτσι το RNA αποκτά (στα μάτια των μαθητών) τον ρόλο και την υπόσταση που του αρμόζει.

- Μιλάμε για τη βιοσύνθεση του mRNA (αναφερόμαστε και στη RNA πολυμεράση) και κάνουμε αναφορά στον μη σημαντικό ρόλο των λαθών κατά τη μεταγραφή, αφού αυτά δεν διαβιβάζονται σε απογόνους.
- Στη συνέχεια αναφερόμαστε στα ncRNAs με έμφαση στα δύο βασικά: tRNA και rRNA.
- Δίνουμε ιδιαίτερη προσοχή στη αποσαφήνιση της παρασκευής των πρωτεϊνών στα ριβοσώματα και στον ρόλο που αυτές θα επιτελέσουν στη συνέχεια.
- Ακολουθεί η αναφορά μας στην υπόλοιπη «οικογένεια» των μικρών RNAs με τα χαρακτηριστικά, τις λειτουργίες και τις (πιθανές ή πραγματικές) χρήσεις τους, τόσο στη θεωρητική Βιοχημεία, όσο και σε κλινικές εφαρμογές.
- Είναι σημαντικό πριν την ολοκλήρωση της ενότητας να δοθεί έμφαση τόσο στην όλο και αυξανόμενη RNA οικογένεια, όσο και σε πιθανές χρήσεις τους που μπορούν να αποβούν καταλυτικά σημαντικές για χρόνια προβλήματα της ανθρωπότητας (HIV, καρκίνος, κ.α.)
- Κλείνοντας μπορούμε να δώσουμε στους μαθητές ένα φύλλο εργασίας με ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής, ή να συμπληρώσουν έναν εννοιολογικό χάρτη με τις δομές του RNA ή όπως προαναφέραμε στο τέλος κάθε διδακτικής ώρας (από τις 2 – 4 ώρες που θα διαρκέσει η ενότητα) να δίνουμε ένα φύλλο *ανατροφοδότησης μαθήματος*.
- Κατά τη διάρκεια της διδασκαλίας μας, πρέπει να την εμπλουτίσουμε με εικόνες (από το διαδίκτυο κυρίως) και βίντεο, ενώ στο τέλος προτείνουμε να δείξουμε το καταπληκτικό [βίντεο της NOVA](#) για το online παιχνίδι [eterna](#), όπου σχεδιάστηκε από βιολόγους, αλλά απευθύνεται σε όλους. Πρόκειται για τον σχεδιασμό μοτίβων RNA τα οποία στη συνέχεια ελέγχονται από ειδικούς για τη χρησιμότητά τους ή μη. Το βίντεο αναφέρει πως υπάρχει η πιθανότητα το RNA που ένας τυχαίος χρήστης σχεδίασε, να είναι αυτό που θα καταπολεμήσει τον HIV ή θα σταματήσει την εξάπλωση του καρκίνου, ή θα κάνει «κάτι» που κανείς μέχρι τώρα δεν σκέφτηκε ότι γίνεται!

Κατά τη γνώμη μας μια τέτοια προσπάθεια αξίζει να μεταφερθεί στους μαθητές μας και είναι σίγουρο πως (λόγω του σχεδιασμού της, ως παιχνίδι) θα τραβήξει πολύ την προσοχή τους.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 2^ο Θέματος

1. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Βιοχημεία. *ΠΕΚ.*; Τόμος Ι Κεφ.5, σελ. 129, 2006
2. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Βιοχημεία. *ΠΕΚ.*; Τόμος Ι Κεφ.1, σελ. 6, 2006
3. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Βιοχημεία. *ΠΕΚ.*; Τόμος Ι Κεφ.5, σελ. 141, 2006
4. Γεωργάτσος Ι. Βιοχημεία. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; Τόμος Β΄ Κεφ.6, σελ. 133, 2000
5. Αλέπορου-Μαρίνου Β, Αργυροκαστρίτης Α, Κομητοπούλου Αι, Πιαλόγλου Π, Σγουρίτσα Β. Βιολογία Γ΄ Λυκείου Θετικής κατεύθυνσης. *Εκδόσεις ΙΤΥΕ Διόφαντος.*; σελ. 35, 2014-15
6. Eddy SR. Non-coding RNA genes and the modern RNA world. *Nat Rev Genet.*, 2(12): 919–29, 2011 ([link](#))
7. Lee C. List of 11 other types of RNA. (*τελευταία επίσκεψη 30-12-15*) ([link](#))
8. Krebs JE, Goldstein ES, Kilpatrick ST. Lewin’s Genes XI. *Εκδόσεις Jones & Bartlett Learning.*; Κεφ.2, σελ. 38, 2014
9. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Βιοχημεία. *ΠΕΚ.*; Τόμος Ι Κεφ.5, σελ. 128, 2006
10. Γεωργάτσος Ι. Βιοχημεία. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; Τόμος Β΄ Κεφ.6, σελ. 156, 2000
11. Krebs JE, Goldstein ES, Kilpatrick ST. Lewin’s Genes XI. *Εκδόσεις Jones & Bartlett Learning.*; Κεφ.2, σελ. 39, 2014
12. Ibba M, Becker HD, Stathopoulos C, Tumbula DL, Soll D. The adaptor hypothesis revisited. *Trends Biochem Sci.*, 25(7):311-6, 2000 ([link](#))
13. Krebs JE, Goldstein ES, Kilpatrick ST. Lewin’s Genes XI. *Εκδόσεις Jones & Bartlett Learning.*; Κεφ.24, σελ. 675, 2014
14. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Βιοχημεία. *ΠΕΚ.*; Τόμος ΙΙ Κεφ.28, σελ. 897, 2006
15. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Βιοχημεία. *ΠΕΚ.*; Τόμος Ι Κεφ.2, σελ. 28, 2006
16. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Βιοχημεία. *ΠΕΚ.*; Τόμος ΙΙ Κεφ.29, σελ. 925, 2006
17. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Βιοχημεία. *ΠΕΚ.*; Τόμος ΙΙ Κεφ.29, σελ. 927, 2006
18. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Βιοχημεία. *ΠΕΚ.*; Τόμος ΙΙ Κεφ.28, σελ. 902, 2006
19. Meister G, Eggert C, Bühler D, Brahms H, Kambach C, Fischer U. Methylation of Sm proteins by a complex containing PRMT5 and the putative U snRNP assembly factor pICln. *Curr Biol.*, 11(24):1990-4, 2001 ([link](#))
20. Paushkin S, Gubitza AK, Massenet S, Dreyfuss G. The SMN complex, an assemblysome of ribonucleoproteins. *Curr Opin Cell Biol.*, 14(3):305-12, 2002 ([link](#))
21. Yong J, Wan L, Dreyfuss G. Why do cells need an assembly machine for RNA-protein complexes? *Trends Cell Biol.*, 14(5):226-32, 2004 ([link](#))
22. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Βιοχημεία. *ΠΕΚ.*; Τόμος ΙΙ Κεφ.28, σελ. 904, 2006

23. Lerner MR, Steitz JA. Antibodies to small nuclear RNAs complexed with proteins are produced by patients with systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 76(11):5495-9, 1979 ([link](#))
24. Terns MP, Terns RM. Small nucleolar RNAs: versatile trans-acting molecules of ancient evolutionary origin. *Gene Expr.*, 10(1-2):17-39, 2002 ([link](#))
25. Lafontaine DL, Tollervey D. Birth of the snoRNPs: the evolution of the modification-guide snoRNAs. *Trends Biochem Sci.*, 23(10):383-8, 1998 ([link](#))
26. Ender C, Krek A, Friedländer MR, Beitzinger M, Weinmann L, Chen W, Pfeffer S, Rajewsky N, Meister G. A human snoRNA with microRNA-like functions. *Mol Cell.*, 32(4):519-28, 2008 ([link](#))
27. Kishore S, Stamm S. The snoRNA HBII-52 regulates alternative splicing of the serotonin receptor 2C. *Science*, 311(5758):230-2, 2006 ([link](#))
28. Nicholls RD, Knepper JL. Genome organization, function, and imprinting in Prader-Willi and Angelman syndromes. *Annu Rev Genomics Hum Genet.*, 2:153-75, 2001 ([link](#))
29. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C.elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell.*, 75(5):843-54, 1993 ([link](#))
30. Murchison EP, Hannon GJ. miRNAs on the move: miRNA biogenesis and the RNAi machinery. *Curr Opin Cell Biol.*, 16(3):223-9, 2004 ([link](#))
31. Lund E, Dahlberg JE. Substrate selectivity of exportin 5 and Dicer in the biogenesis of microRNAs. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.*, 71:59-66, 2006 ([link](#))
32. Ji F, Liu L, Tien YH, Peng YH, Lee HC. Non-Catalytic RISCs and Kinetics Determine Mammalian siRNA Sub-Cellular Localization. *PLoS One.*, 10(12):e0143182, 2015 ([link](#))
33. Brennecke J, Hipfner DR, Stark A, Russell RB, Cohen SM. Bantam encodes a developmentally regulated microRNA that controls cell proliferation and regulates the proapoptotic gene *hid* in *Drosophila*. *Cell.*, 113(1):25-36, 2003 ([link](#))
34. Hamilton AJ, Baulcombe DC. A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science*, 286(5441):950-2, 1999 ([link](#))
35. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature*, 409(6818):363-6, 2001 ([link](#))
36. Meister G. Argonaute proteins: functional insights and emerging roles. *Nature Reviews Genetics* **14**, 447–459, 2013 ([link](#))
37. Moldovan D, Spriggs A, Dennis ES, Wilson IW. The hunt for hypoxia responsive natural antisense short interfering RNAs. *Plant Signal Behav.*, 5(3): 247–251, 2010 ([link](#))

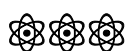
38. Seto AG, Kingston RE, Lau NC. The Coming of Age for Piwi Proteins. *Molecular Cell*, 26(5): 603-609, 2007 ([link](#))
39. Brennecke J, Aravin AA, Stark A, Dus M, Kellis M, Sachidanandam R, Hannon GJ. Discrete Small RNA-Generating Loci as Master Regulators of Transposon Activity in *Drosophila*. *Cell*, 128 (6): 1089–1103, 2007 ([link](#))
40. Wang G, Reinke V, A C. elegans Piwi, PRG-1, Regulates 21U-RNAs during Spermatogenesis. *Current Biology*, 18(12): 861-867, 2008 ([link](#))



ΠΕΡΙΛΗΨΗ 2^{ΟΥ} ΘΕΜΑΤΟΣ

Το RNA είναι ένα μονόκλωνο νουκλεϊκό οξύ που αποτελείται από επαναλαμβανόμενα νουκλεοτίδια ενωμένα με 3'→5' φωσφοδιεστερικούς δεσμούς. Κάθε νουκλεοτίδιο αποτελείται από μια ριβόζη (σάκχαρο), ένα φωσφορικό ανιόν και μια εκ των τεσσάρων βάσεων: αδενίνη, γουανίνη, κυτοσίνη, ουρακίλη. Το RNA λειτουργεί ως αγγελιοφόρος των γενετικών πληροφοριών από το DNA, ως μεταφραστής πληροφοριών και ως δομικό συστατικό των ριβοσωμάτων. Οι δύο βασικές κατηγορίες του RNA είναι τα κωδικά RNAs (που μεταφράζονται σε πρωτεΐνες και είναι τα mRNAs) και είναι τα μη κωδικά RNAs (που δεν μεταφράζονται και είναι όλα τα άλλα). Πιο αναλυτικά έχουμε:

- **mRNA**: αγγελιοφόρο RNA, μεταγράφεται από το DNA και μεταφέρει τις πληροφορίες του DNA στα ριβοσώματα για να γίνει η πρωτεϊνσύνθεση. Συντίθεται από RNA πολυμεράσες (ένζυμα) που καθοδηγούνται από τα εκμαγεία του DNA.
- **tRNA**: μεταφορικό RNA, μεταφέρει ένα συγκεκριμένο, κάθε φορά, αμινοξύ σε μια αναπτυσσόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα του ριβοσώματος όπου γίνεται η πρωτεϊνσύνθεση.
- **rRNA**: ριβοσωμικό RNA, καταλύει τον σχηματισμό του πεπτιδικού δεσμού στο ριβόσωμα, μεταξύ δύο tRNAs με τα αμινοξέα τους. Μαζί με το tRNA θεωρείται τμήμα του πρωτεϊνικού συνθετικού μηχανισμού. Αποτελεί επίσης δομικό στοιχείο του ριβοσώματος.
- **snRNA**: μικρό πυρηνικό RNA, σχετίζεται με το μάτισμα των πρόδρομων mRNAs (απομακρύνει τα εσώνια, καθοδηγεί την ευθυγράμμιση των θέσεων μάτισματος, παίζει καταλυτικό ρόλο).
- **snoRNA**: μικρό πυρηνισκικό RNA, τροποποιεί το pre-rRNA στις λειτουργικές υπομονάδες S. Προέρχεται από τροποποίηση κάποιων ιντρονίων. Μπορεί να έχει και λειτουργίες άσχετες με τα rRNAs.
- **miRNA**: μικρό RNA, αναστέλλει την έκφραση των γονιδίων όταν προσδέεται σε mRNAs, με τελική αναστολή της μετάφρασης των mRNAs σε πρωτεΐνες. Είναι δίκλωνο RNA με πιθανές εφαρμογές στην καταπολέμηση ασθενειών.
- **siRNA**: μικρό παρεμβαλλόμενο RNA, και αυτό είναι δίκλωνο RNA που χρησιμοποιείται ως όργανο αδρανοποίησης ειδικών γονιδίων και έλεγχου της RNA – παρέμβασης. Πιθανές θεραπευτικές εφαρμογές.
- **natsiRNA**: φυσικό αντινοσηματικό μικρό RNA παρέμβασης, ένας άλλος τύπος του siRNA που αποτελεί ενδογενή ρυθμιστή RNA.
- **piRNA**: piwi αλληλεπιδρών RNA, σχετίζεται, ως προς τη βιοσύνθεσή του, με την πρωτεΐνη piwi. Έχει ρόλο αδρανοποίησης γονιδίων και φίμωσης μεταθετών.



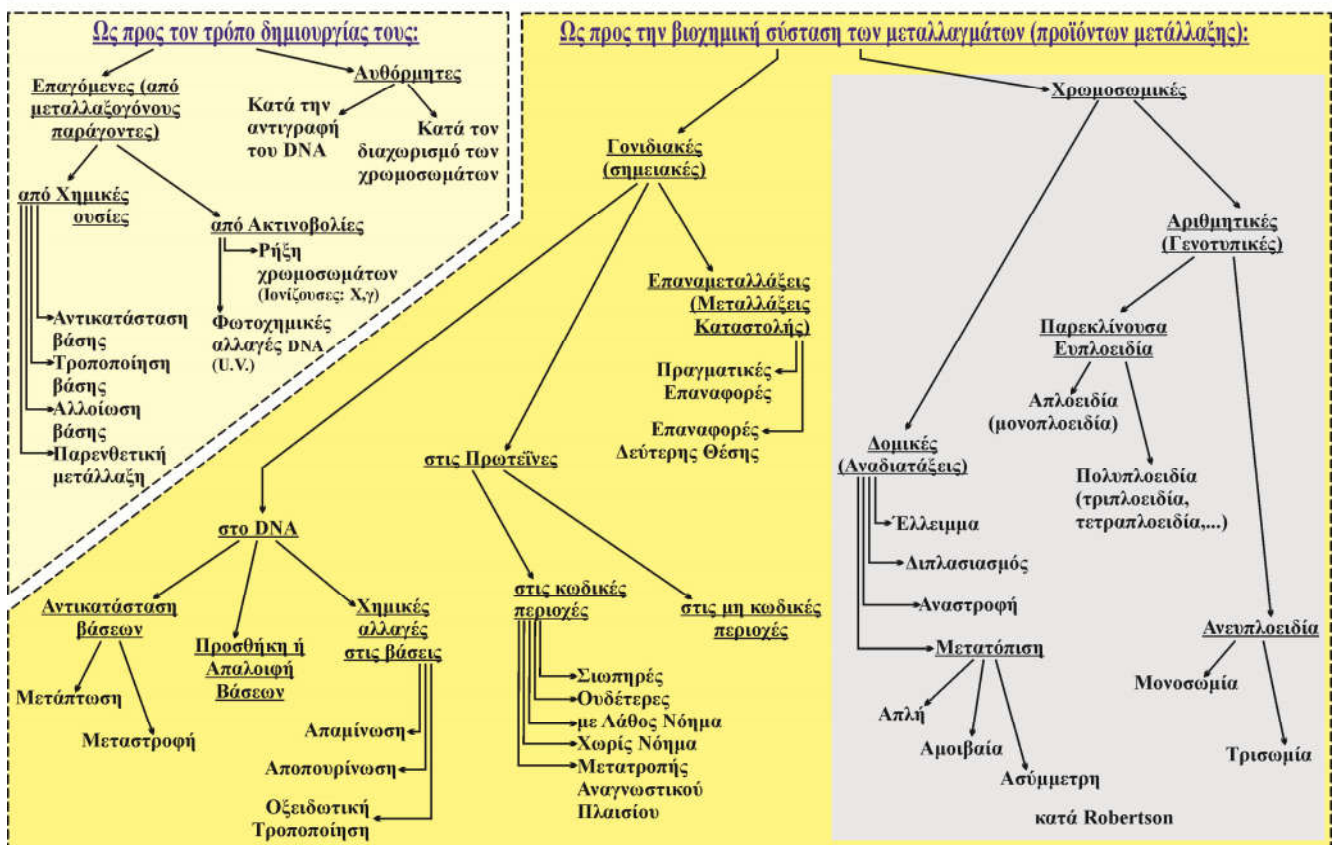
Θέμα 3

Είδη μεταλλάξεων και μεταλλαξογόνων παραγόντων. Ρόλος τους στην εξέλιξη και στη ζωή των έμβιων όντων

Μεταλλάξεις καλούνται οι αλλαγές στο γονιδίωμα (γενετικό υλικό) στη διάρκεια του χρόνου. Αφορούν μικρής ή μεγάλης κλίμακας αλλαγές στην αλληλουχία των νουκλεοτιδίων¹. Οι μεταλλάξεις κατηγοριοποιούνται ανάλογα με τον τρόπο δημιουργίας τους ή ως προς τη σύσταση των προϊόντων τους.

Ο επόμενος πίνακας δείχνει τις βασικές κατηγορίες των μεταλλάξεων. Φτιάχτηκε (με το πρόγραμμα [CoreDRAW 9](#)) βάσει των αναφορών που θα ακολουθήσουν στις περιγραφές:

ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ



Ως προς τη βιοχημική σύσταση των μεταλλαγμάτων έχουμε τις γονιδιακές και τις χρωμοσωμικές μεταλλάξεις²:

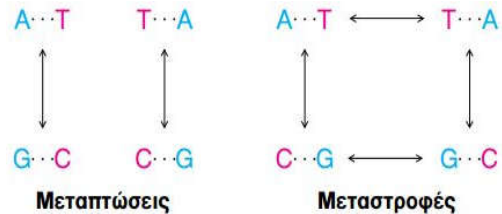
➤ **Γονιδιακές:** αφορούν μικρό αριθμό βάσεων σε μια περιοχή του DNA που αναφέρεται σε ένα γονίδιο³. Χαρακτηρίζονται και ως **σημειακές** (αντικατάσταση ενός μόνο νουκλεοτιδίου από ένα άλλο¹).

➤ **Χρωμοσωμικές:** αφορούν μεγάλο αριθμό βάσεων (στο μέγεθος του χρωμοσώματος³).

➤Οι γονιδιακές μεταλλάξεις χωρίζονται σε αυτές σε επίπεδο DNA, σε αυτές σε επίπεδο πρωτεΐνης και στις επαναμεταλλάξεις:

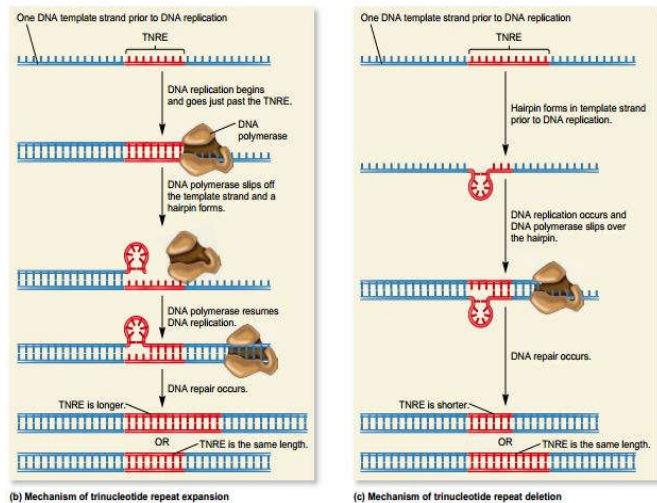
❖ Σε επίπεδο DNA έχουμε:

♦ Αντικατάσταση ζεύγους βάσεων από άλλο ζεύγος και συγκεκριμένα τις περιπτώσεις της μετάπτωσης (αντικατάσταση πουρίνης από πουρίνη και πυριμιδίνης από πυριμιδίνη) και της μεταστροφής (αντικατάσταση πουρίνης από πυριμιδίνη ή πυριμιδίνης από πουρίνη)^{4,5}.



♦ Προσθήκη ή Απαλοιφή Βάσεων

κατά την αντιγραφή του DNA: η DNA πολυμεράση ολισθαίνει προς τα πίσω (splits off) και σχηματίζεται φουρκέτα στη νέα αλυσίδα ή ολισθαίνει προς τα εμπρός (splits over) και η φουρκέτα σχηματίζεται στην αρχική αλυσίδα. Η διαδικασία της επιδιόρθωσης δίνει την μετάλλαξη⁶.



♦ Χημικές αλλαγές στις βάσεις που διακρίνονται σε⁷:

➤ Αποπουρίνωση: απομάκρυνση πουρίνης από το DNA. Αν η επιδιόρθωση δεν την αντικαταστήσει με την ίδια πουρίνη, τότε οιαδήποτε βάση μπορεί να ενσωματωθεί και να έχουμε μετάλλαξη.

➤ Απαμίνωση: απομάκρυνση αμινομάδας από μια βάση και μετατροπή της σε άλλη βάση (πχ αδενίνη $\xrightarrow{\text{απαμίνωση}}$ ουρακίλη). Αν η άλλη βάση δεν απομακρυνθεί, ζευγαρώνει και δίνει ένα νέο ζεύγος βάσεων.

➤ Οξειδωτική Τροποποίηση: ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (παραπροϊόντα του κυτταρικού μεταβολισμού) αλλοιώνουν οξειδωτικά τις βάσεις με αποτέλεσμα να έχουμε αλλαγές στο ζευγάρωμά τους.

❖ **Σε πρωτεϊνικό επίπεδο έχουμε:**

♦ **σε κωδική περιοχή του DNA** έχουν ως αποτέλεσμα την αλλαγή της γονιδιακής δομής που στη συνέχεια αλλάζει ή διακόπτει την αμινοξική ακολουθία που κωδικοποιεί. Τελικά το πεπτίδιο παράγεται αλλοιωμένο ή δεν παράγεται καθόλου^{8,9}. Τα είδη αυτών των μεταλλάξεων είναι:

➡ **Σιωπηλές μεταλλάξεις:** οδηγούν σε κωδικό για το ίδιο αμινοξύ

➡ **Ουδέτερες μεταλλάξεις:** οδηγούν σε κωδικό για ισοδύναμο αμινοξύ

➡ **Μεταλλάξεις με λάθος νόημα:** οδηγούν σε κωδικό για διαφορετικό αμινοξύ

➡ **Μεταλλάξεις χωρίς νόημα:** οδηγούν σε κωδικό λήξης της μετάφρασης

➡ **Μεταλλάξεις μετατόπισης Αναγνωστικού πλαισίου:** οδηγούν σε αλλαγή της σύστασης της πρωτεΐνης από το σημείο που προστίθεται ή αφαιρείται το νουκλεοτίδιο

♦ **σε μη κωδική ή σε ρυθμιστική περιοχή του DNA** οι ρυθμιστικές περιοχές είναι υπεύθυνες για την έκφραση του γονιδίου (την πραγματοποίηση της μεταγραφής). Έτσι μετάλλαξη σε ένα τέτοιο σημείο, αποτρέπει την πολυμεράση να αναγνωρίσει την περιοχή και να πραγματοποιήσει την μεταγραφή¹⁰.

❖ **Επαναμεταλλάξεις (back):** πρόκειται για μεταλλάξεις που λειτουργούν αντίθετα από τις forward μεταλλάξεις που αδρανοποιούν τα γονίδια. Οι επαναμεταλλάξεις διακρίνονται σε¹¹:

♦ **πραγματικές επαναφορές (true reversions)** πλήρης αντικατάσταση της αρχικής μετάλλαξης

♦ **επαναφορές δεύτερης θέσης (second-site reversions)** αποκατάσταση της λειτουργίας της πρωτεΐνης από νέα μετάλλαξη στο *αυτό* ή σε άλλο γονίδιο.

Μεταλλάξεις **καταστολής** ονομάζονται οι ακριβείς αντιστροφές της αρχικής μετάλλαξης που δίνουν το πρωτότυπο γονίδιο.



➤ Οι χρωμοσωμικές μεταλλάξεις χωρίζονται σε αριθμητικές και δομικές:

❖ Αριθμητικές ή Γενοτυπικές μεταλλάξεις κατά τις οποίες αλλάζει ο αριθμός των χρωμοσωμάτων¹². Διακρίνονται σε:

♦ Παρεκκλίνουσα Ευπλοειδία όπου έχουμε αλλαγές στο σύνολο των χρωμοσωμάτων και διακρίνεται σε:

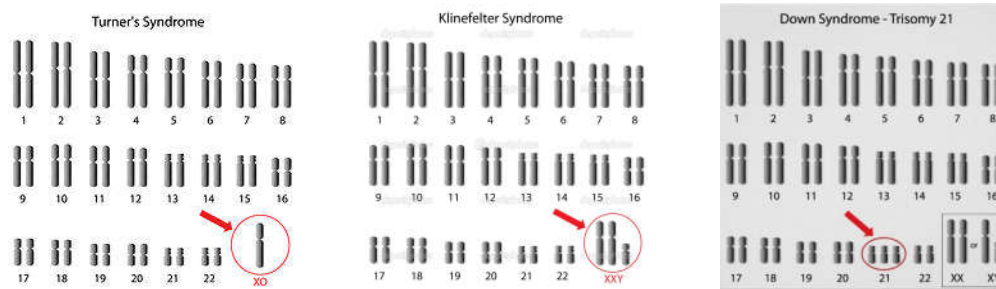
➤ Απλοειδία ή μονοπλοειδία όπου λείπει μια χρωμοσωμική σειρά

➤ Πολυπλοειδία όπου έχουμε αύξηση των χρωμοσωμικών σειρών (τριπλοειδία: 3 σειρές χρωμοσωμάτων, τετραπλοειδία: 4 σειρές, κλπ)¹³

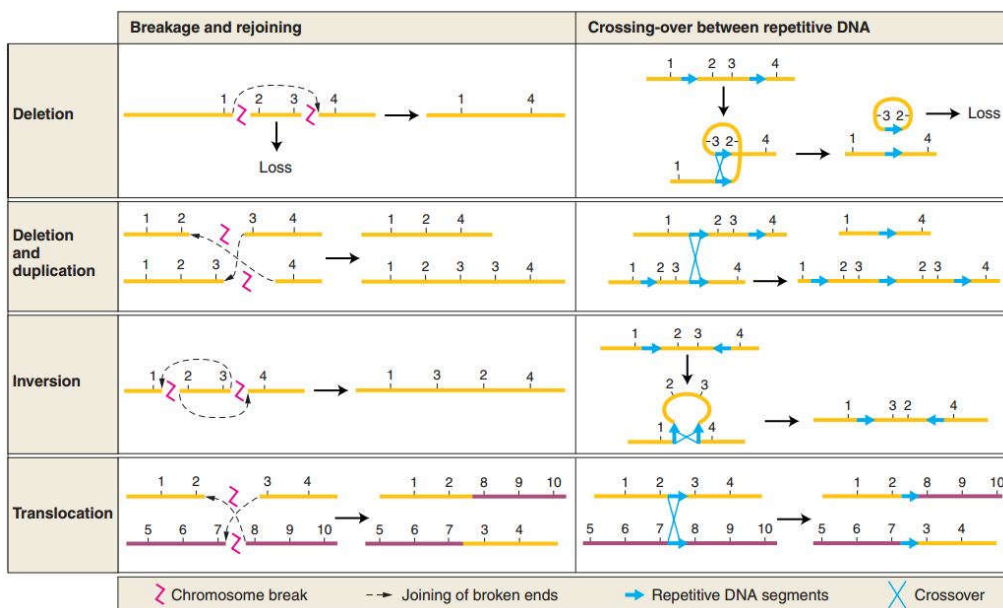
♦ Ανευπλοειδία όπου έχουμε αλλαγές στο συνολικό αριθμό των χρωμοσωμάτων (περισσότερα ή λιγότερα). Σχετίζονται με προβλήματα βιωσιμότητας και διανοητικής καθυστέρησης (σύνδρομα Turner, Klinefelter, Down)¹⁴. Διακρίνεται σε:

➤ Μονοσωμία (2n-1) απουσία ενός χρωμοσώματος στη διπλοειδή (2n) σειρά

➤ Τρισωμία (2n+1) ένα επιπλέον χρωμόσωμα στη διπλοειδή (2n) σειρά



❖ Δομικές Μεταλλάξεις ή Αναδιατάξεις: πρόκειται για μεταλλάξεις που μεταβάλλουν τη δομή των χρωμοσωμάτων^{15,16}.

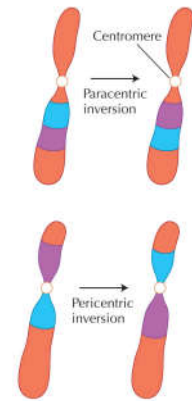


Διακρίνονται σε:

♦ **Ελλείμματα (deletions):** απώλεια ενός τμήματος του χρωμοσώματος. Το χρωμόσωμα “σπάει” σε δύο σημεία, το ενδιάμεσο τμήμα ενώνεται σε θηλιά και χάνεται και τα ακραία τμήματα επανενώνονται.

♦ **Διπλασιασμοί (duplications):** είναι η αντιγραφή ενός τμήματος του χρωμοσώματος μέσα στο ίδιο το χρωμόσωμα. Είναι σημαντικοί μηχανισμοί για την εξέλιξη και την επίτευξη καινούριων κυτταρικών λειτουργιών.

♦ **Αναστροφές (inversions):** το χρωμόσωμα “σπάει” σε δύο σημεία, το ενδιάμεσο τμήμα αντιστρέφεται και επανενώνεται στα ίδια σημεία. Διακρίνονται σε **παρακεντρικές (paracentrics)** και **περικεντρικές (pericentrics)** ανάλογα με το αν το κεντρομερές είναι έξω ή ανάμεσα στην αναστροφή¹⁷.



♦ **Μεταπτώσεις (translocations):** το χρωμόσωμα “σπάει” σε δύο σημεία και το ενδιάμεσο τμήμα προσκολλάται σε ένα άλλο σημείο του χρωμοσώματος ή σε άλλο χρωμόσωμα. Διακρίνονται σε:

☞ **Απλές (simple) μεταθέσεις:** το τμήμα του ενός χρωμοσώματος ενώνεται στο άλλο

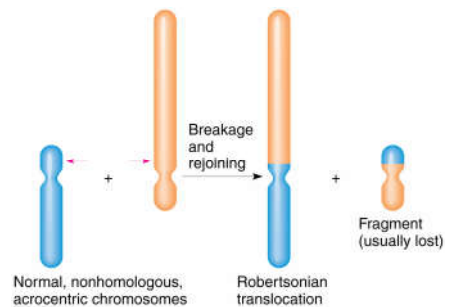
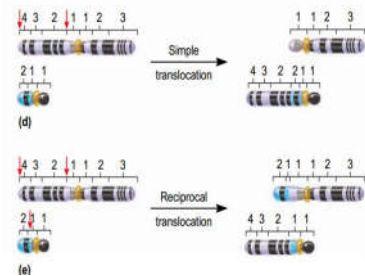
☞ **Αμοιβαίες (reciprocals) μεταθέσεις:** (ή ισορροπημένες) δύο χρωμοσώματα ανταλλάσσουν τμήματα

☞ **Ασύμμετρες μεταθέσεις:** (ή μη ισορροπημένες) δημιουργούνται σε απογόνους ατόμων με αμοιβαίες μεταθέσεις και χαρακτηρίζονται από απώλεια ή διπλασιασμό σημαντικών τμημάτων του γενετικού τους υλικού¹⁸.

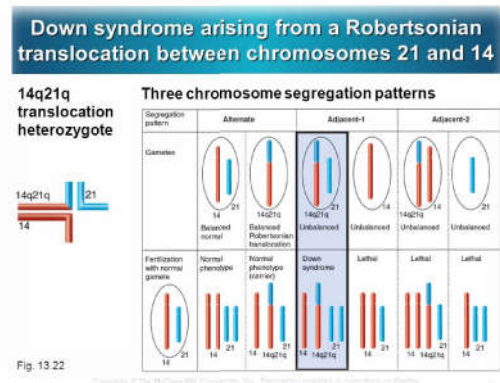
☞ **Μετατοπίσεις κατά Robertson**^{19,20}:

***χρωμοσωμική σύντηξη (fussion):** ένωση δύο μη ομόλογων χρωμοσωμάτων (στην περιοχή των κεντρομερών) και σχηματισμός ενός νέου χρωμοσώματος.

***χρωμοσωμική διάσπαση (fission):** διάσπαση ενός χρωμοσώματος (στην περιοχή του κεντρομερούς) και σχηματισμός δύο νέων χρωμοσωμάτων.



Υπάρχει άμεση συσχέτιση μεταξύ των Robertsonian μετατοπίσεων και των ανευπλοειδών μεταλλάξεων, όπως βλέπουμε την επόμενη εικόνα²¹:



ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΟΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

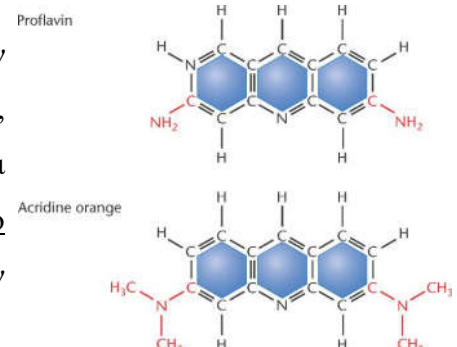
Όπως αναφέραμε στην αρχή, στον “Πίνακα των Μεταλλάξεων” οι μεταλλάξεις μπορεί να είναι αυθόρμητες (κατά την αντιγραφή του DNA ή κατά τον διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων)²², αλλά μπορεί να είναι και επαγόμενες, δηλαδή να προκαλούνται από εξωτερικούς παράγοντες που ονομάζονται **μεταλλαξογόνοι** και είναι οι **χημικές ουσίες** και οι **ακτινοβολίες**. Είναι δηλαδή περιβαλλοντικοί (φυσικοί ή χημικοί) παράγοντες, που είτε υπάρχουν στη φύση, πχ UV ακτινοβολία, συστατικά περιβάλλοντος, κοσμικές ακτίνες κ.α., είτε είναι ανθρώπινα κατασκευάσματα, πχ μόλυνση του περιβάλλοντος, ακτίνες X, γ και σωματιδιακές ακτίνες (α, β), νικοτίνη, κ.α.

➤ Χημικοί Μεταλλαξογόνοι Παράγοντες^{23,24}:

❖ **Ανάλογα βάσεων**: χημικές ενώσεις που η δομή τους μοιάζει με αυτή των βάσεων του DNA (πχ 5-βρωμοουρακίλη, 2-αμινο-πουρίνη). Μπορούν να ενωθούν στο DNA στη θέση των βάσεων και να προκαλέσουν αντικατάσταση μιας βάσης.

❖ **Τροποποιητές βάσεων**: χημικές ενώσεις που τροποποιούν χημικά τις βάσεις (πχ νιτρώδες οξύ, υδροξυλαμίνη και αλκυλιωτικοί παράγοντες: EMS, NG). Αλλάζουν τις ιδιότητες του ζευγαρώματος και έτσι οι βάσεις ζευγαρώνουν με διαφορετικές πλέον βάσεις.

❖ **Παρενθετικοί παράγοντες**: χημικές ενώσεις που έχουν δομή πεπλατυσμένου μορίου (πχ προφλαβίνη, πορτοκαλόχρουν της ακριδίνης, ICRs) και παρεμβάλλονται ανάμεσα στις στοιβαγμένες βάσεις προκαλώντας την είσοδο ή απαλοιφή απλών νουκλεοτιδικών ζευγών. Προκαλούν μεταλλάξεις αναγνωστικού πλαισίου.



❖ **Μεταλλαξογόνα που αλλοιώνουν βάσεις:** χημικές ενώσεις που η δράση τους πάνω στις βάσεις, προκαλεί αλλοίωσή τους με αποτέλεσμα να γίνεται αδύνατο το ζευγάρωμά τους. Σταματάει έτσι η αντιγραφή του DNA. Η πιο γνωστή τέτοια ένωση είναι η αφλατοξίνη B₁.

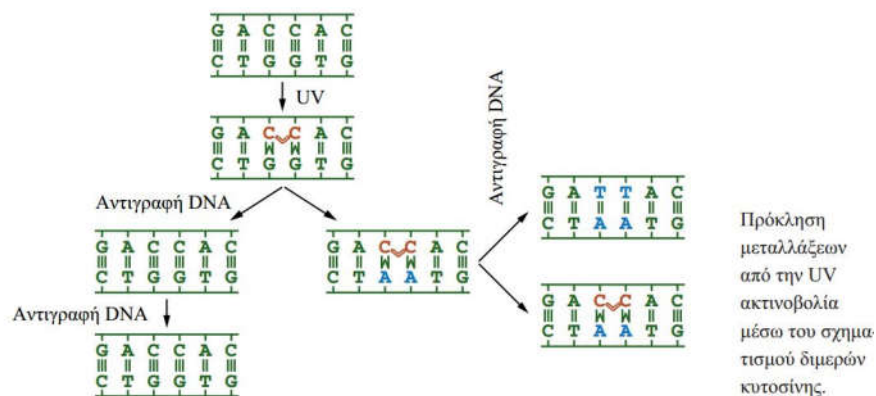
❖ **Καταβολικά Μεταλλαξογόνα:** χημικές ενώσεις που δεν είναι οι ίδιες μεταλλαξογόνες, αλλά τα καταβολικά τους προϊόντα. Χαρακτηριστική ένωση είναι το benzo(a)pyrene που ένα από τα προϊόντα του καταβολισμού του είναι το διολεποξειδίο.



➤ **Ακτινοβολίες:**

❖ **Ιονίζουσες Ακτινοβολίες:** ακτίνες-X και Ακτίνες-γ. Ιονίζουν διάφορα μόρια του κυττάρου, πχ το νερό, παράγοντας ελεύθερες ρίζες, κυρίως ρίζες οξυγόνου. Αυτές προσβάλλουν το DNA αλλοιώνοντας μια βάση ή δημιουργώντας μονόκλωνα ή δίκλωνα ρήγματα (χρωμοσωμικές μεταλλάξεις: *κλαστογόνο*). Μπορεί επίσης (σε χαμηλές δόσεις) να προκαλέσουν και σημειακές μεταλλάξεις. Έχουν δράση ανάλογα με τη δόση και με ακραίο αποτέλεσμα το θάνατο. Η δράση τους είναι προσθετική και δεν υπάρχει κατώτερο όριο δόσης! Χρησιμοποιούνται και στις ακτινοθεραπείες κατά του καρκίνου, αφού μπορούν και καταστρέφουν επιλεκτικά τα καρκινικά κύτταρα^{25,26}.

❖ **Υπεριώδης Ακτινοβολία (U.V.):** με μήκη κύματος 1-400 nm, είναι μια φυσική ακτινοβολία που προέρχεται από τον Ήλιο. Προσβάλλει το DNA, αφού πουρίνες και πυριμιδίνες απορροφούν έντονα στα 260 nm. Προκαλεί ομοιοπολική σύνδεση παρακείμενων πυριμιδινικών καταλοίπων κατά μήκος ενός κλώνου του DNA. Το διμερές των πυριμιδινών που προκύπτει δεν ταιριάζει στη διπλή έλικα και έτσι η αντιγραφή (άρα και η γονιδιακή έκφραση) σταματάει^{25,26,27}.



ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ

ΣΤΗ ΖΩΗ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΩΝ ΕΜΒΙΩΝ ΟΝΤΩΝ

➤ **ΣΤΗΝ ΕΞΕΛΙΞΗ**: ως εξέλιξη ορίζουμε την αλλαγή του συνόλου των γονιδίων κάποιου είδους ή πληθυσμού με την πάροδο του χρόνου, δεδομένου ότι κάθε γονίδιο (κληρονομική μονάδα) μεταβιβάζεται αναλλοίωτο για πολλές γενεές²⁸.

Οι **μεταλλάξεις**, που αλλάζουν τη δομή των γονιδίων, γίνονται τυχαία, αυθόρμητα ή επαγόμενα (από εξωτερικούς παράγοντες). Μαζί με την **φυσική επιλογή**, τη **γενετική εκτροπή** και τον **ανασυνδυασμό** αποτελούν τους μηχανισμούς της εξέλιξης. Μάλιστα οι μεταλλάξεις ανήκουν στο τμήμα των μηχανισμών που αυξάνουν την γενετική ποικιλότητα²⁹.

Οι φυσικές μεταλλάξεις είναι τυχαίες και οι περισσότερες είναι ουδέτερες ή βλαβερές³⁰. Λίγες μεταλλάξεις είναι χρήσιμες και τελικά αποτελούν τον “κορμό” της εξέλιξης: *τα τυχαία μεταλλαγμένα είδη προσαρμόζονται καλύτερα στο περιβάλλον τους, επιβιώνουν περισσότερο, δημιουργώντας περισσότερους απογόνους (που φέρουν τη μετάλλαξη τους). Έτσι ο πληθυσμός των μεταλλαγμένων – ευπροσάρμοστων ατόμων αυξάνεται και επικρατεί έναντι των υπολοίπων (φυσική επιλογή).*

➤ **ΣΤΗ ΖΩΗ**: οι μεταλλάξεις μπορεί να έχουν αρνητικό ή θετικό αντίκτυπο στη ζωή του ανθρώπου. Υπάρχουν παθολογικές καταστάσεις που οφείλονται στις μεταλλάξεις αλλά και καταστάσεις που ουσιαστικά διατηρούν τον άνθρωπο στη ζωή.

❖ **Παθολογικές καταστάσεις**³¹:

♦ **Μελαχρωμική ξηροδερμία**: ασθένεια με σοβαρή φωτοευαισθησία, δέρμα ξηρό και μελανό και με υψηλά ποσοστά καρκίνου του δέρματος. Προκαλείται από μεταλλάξεις στα γονίδια επιδιόρθωσης του DNA και οφείλεται στην UV ακτινοβολία.

♦ **Σύνδρομα Down, Turner, Williams, Klinefelter**: οφείλονται σε μεταλλάξεις που σχετίζονται με τον αριθμό των χρωμοσωμάτων και παρουσιάζουν δυσμορφίες, νοητική υστέρηση, μικρό προσδόκιμο ζωής.

♦ **Αιμοσφαιρινοπάθειες**: (όπως η **θαλασσαιμία**) οφείλονται σε σημειακές μεταλλάξεις γονιδίων που κωδικοποιούν τις υπομονάδες της αιμοσφαιρίνης. Έτσι προκύπτουν παθολογικές αιμοσφαιρίνες με πρόβλημα στη δέσμευση ή την απελευθέρωση του οξυγόνου.

♦ **Δρεπανοκυτταρική αναιμία:** ασθένεια που ως χαρακτηριστικό έχει την αλλαγή του σχήματος των ερυθροκυττάρων (σε δρεπανοειδή μορφή). Τα κύτταρα αυτά πεθαίνουν γρηγορότερα και εμφανίζεται αναιμία.



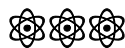
Υπάρχει δυσλειτουργία οργάνων, περιπτώσεις εγκεφαλικών επεισοδίων ή πρόιμου θανάτου. Οφείλεται σε σημειακή μετάλλαξη A→T.

♦ **Γαλακτοζαιμία:** ασθένεια κατά την οποία λείπει ένα από τα ένζυμα που μετατρέπουν τη γαλακτόζη σε γλυκόζη. Οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου που κωδικοποιεί το ένζυμο. Εμφανίζεται πνευματική καθυστέρηση και αντιμετωπίζεται με αποχή από τα γαλακτοκομικά προϊόντα.

♦ **Καρκίνος ή Νεοπλασία:** νόσος πολυκύτταρων οργανισμών που εμφανίζεται ως ανώμαλος και ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός κυττάρων. Συνοδεύεται συνήθως και με ανώμαλη διαφοροποίηση. Οφείλεται σε μεταλλάξεις γονιδίων που ρυθμίζουν την ανάπτυξη των κυττάρων. Δύο είναι οι κατηγορίες αυτών των μεταλλαγμένων γονιδίων: τα ογκογονίδια (που προκαλούν καρκίνο) και τα αντιογκογονίδια (που δεν είναι πλέον σε θέση να ελέγξουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων).

❖ **Χρήσιμες Μεταλλάξεις**³²:

♦ **Λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος:** στηρίζεται στις μεταλλάξεις των λεμφοκυττάρων. Τα αντισώματα και οι υποδοχείς είναι πρωτεΐνες που κωδικοούνται από γονίδια, τα οποία δεν υπάρχουν ούτε στους γαμέτες, ούτε στα σωματικά κύτταρα κατά τη γέννηση του οργανισμού. Η ποικιλότητα των υποδοχέων των T-λεμφοκυττάρων και των αντισωμάτων, οφείλεται σε μεταλλάξεις και ανασυνδυασμό των αντίστοιχων γονιδίων.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 3^ο Θέματος

1. Ζαχαροπούλου Α. Genetics. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; ΕΔΥ-Υπερκείμενο, σελ. 11
2. Αλέπορου-Μαρίνου Β, Αργυροκαστρίτης Α, Κομητοπούλου Αι, Πιαλόγλου Π, Σγουρίτσα Β. Βιολογία Γ' Λυκείου Θετικής κατεύθυνσης. *Εκδόσεις ΙΤΥΕ Διόφαντος.*; Κεφ.6, σελ. 89-92, 2014-15
3. Γιαννόπουλος Γ. Γενετική. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; Τόμος Α' Κεφ.5, σελ. 145, 2001
4. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Βιοχημεία. *ΠΕΚ.*; Τόμος ΙΙ Κεφ.27, σελ. 865, 2006
5. Ζαχαροπούλου Α. Genetics. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; ΕΔΥ-Υπερκείμενο, σελ. 12
6. Brooker JR. Genetics: analysis & principles. *McGraw-Hill*; Κεφ.16, σελ. 438, 2012
7. Ζαχαροπούλου Α. Genetics. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; ΕΔΥ-Υπερκείμενο, σελ. 13
8. Γιαννόπουλος Γ. Γενετική. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; Τόμος Α' Κεφ.8, σελ. 220, 2001
9. Ζαχαροπούλου Α. Genetics. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; ΕΔΥ-Υπερκείμενο, σελ. 15
10. Γιαννόπουλος Γ. Γενετική. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; Τόμος Α' Κεφ.8, σελ. 221, 2001
11. Krebs JE, Goldstein ES, Kilpatrick ST. Lewin's Genes XI. *Εκδόσεις Jones & Bartlett Learning.*; Κεφ.1, σελ. 19-20, 2014
12. Griffiths JFA, Wessler RS, Lewontin CR, Carroll BS. Introduction to Genetic Analysis, 9th Edition. *W. H. Freeman and Co.*; Κεφ.15, σελ.483, 2007
13. Γιαννόπουλος Γ. Γενετική. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; Τόμος Α' Κεφ.5, σελ. 159, 2001
14. Ζαχαροπούλου Α. Genetics. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; ΕΔΥ-Υπερκείμενο, σελ. 23
15. Brooker JR. Genetics: analysis & principles. *McGraw-Hill*; Κεφ.8, σελ. 191-192, 2012
16. Griffiths JFA, Wessler RS, Lewontin CR, Carroll BS. Introduction to Genetic Analysis, 9th Edition. *W. H. Freeman and Co.*; Κεφ.15, σελ.496, 2007
17. Griffiths JFA, Wessler RS, Lewontin CR, Carroll BS. Introduction to Genetic Analysis, 9th Edition. *W. H. Freeman and Co.*; Κεφ.15, σελ.498, 2007
18. Brooker JR. Genetics: analysis & principles. *McGraw-Hill*; Κεφ.8, σελ. 199, 2012
19. Ζαχαροπούλου Α. Genetics. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; ΕΔΥ-Υπερκείμενο, σελ. 22
20. Brooker JR. Genetics: analysis & principles. *McGraw-Hill*; Κεφ.8, σελ. 200, 2012
21. Hartwell HL, Hood L, Goldberg LM, Reynolds AE, Lee M. Genetics: From Genes to Genomes, 4th Edition. *McGraw Hill*; συνοδευτικό PowerPoint, slide 34 ([link](#))
22. Krebs JE, Goldstein ES, Kilpatrick ST. Lewin's Genes XI. *Εκδόσεις Jones & Bartlett Learning.*; Κεφ.9, σελ. 211, 2014
23. Ζαχαροπούλου Α. Genetics. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; ΕΔΥ-Υπερκείμενο, σελ. 13-14
24. Γιαννόπουλος Γ. Γενετική. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; Τόμος Α' Κεφ.8, σελ. 228-232, 2001
25. Ζαχαροπούλου Α. Genetics. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; ΕΔΥ-Υπερκείμενο, σελ. 14-15

26. Γιαννόπουλος Γ. Γενετική. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; Τόμος Α' Κεφ.8, σελ. 233-235, 2001
27. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Βιοχημεία. *ΠΕΚ.*; Τόμος ΙΙ Κεφ.27, σελ. 866, 2006
28. Σταμάτης Ν. Εισαγωγή στην Εξέλιξη. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; ΕΔΥ-Υπερκείμενο, σελ. 7
29. Σταμάτης Ν. Εισαγωγή στην Εξέλιξη. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; ΕΔΥ-Υπερκείμενο, σελ. 12
30. Γεωργάτσος Ι. Βιοχημεία. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; Τόμος Β' Κεφ.6, σελ. 160, 2000
31. Γεωργάτσος Ι. Βιοχημεία. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; Τόμος Β' Κεφ.6, σελ. 160-165, 2000
32. Γεωργάτσος Ι. Βιοχημεία. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; Τόμος Β' Κεφ.6, σελ. 166-167, 2000

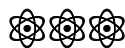


ΠΕΡΙΛΗΨΗ 3^{ΟΥ} ΘΕΜΑΤΟΣ

Μεταλλάξεις είναι οι αλλαγές στο γονιδίωμα, στη διάρκεια του χρόνου. Χωρίζονται σε γονιδιακές και χρωμοσωμικές, ανάλογα με τον αριθμό των βάσεων που αλλάζουν (γονιδιακές: μικρός αριθμός βάσεων σε μια περιοχή του DNA και χρωμοσωμικές: μεγάλος αριθμός βάσεων σε επίπεδο χρωμοσώματος). Το κάθε είδος χωρίζεται σε υποείδη. Συγκεκριμένα οι γονιδιακές χωρίζονται σε αυτές σε επίπεδο DNA (αντικατάσταση, προσθήκη/απαλοιφή και χημική αλλαγή βάσεων), σε αυτές σε επίπεδο πρωτεϊνών (σε κωδικές ή μη κωδικές περιοχές) και στις επαναμεταλλάξεις ή μεταλλάξεις καταστολής (πραγματικές και δεύτερης θέσης). Οι χρωμοσωμικές χωρίζονται σε δομικές (έλλειμμα, διπλασιασμός, αναστροφή, μετατόπιση) και σε αριθμητικές, οι οποίες με τη σειρά τους χωρίζονται σε παρεκκλίνουσα ευπλοειδία (απλοειδία, πολυπλοειδία) και σε ανευπλοειδία (μονοσωμία, τρισωμία).

Οι μεταλλάξεις μπορεί να είναι αυθόρμητες ή επαγόμενες, δηλαδή να προκαλούνται από μεταλλαξογόνους παράγοντες. Τέτοιοι είναι οι χημικοί (ανάλογα/τροποποιήσεις/αλλοιώσεις βάσεων, παρενθετικοί παράγοντες, καταβολικά μεταλλαξογόνα) και οι ακτινοβολίες (υπεριώδεις και ιονίζουσες: X, γ).

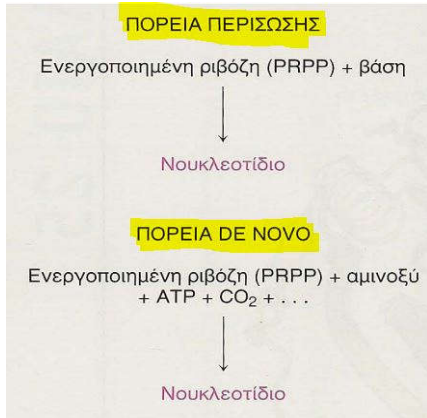
Μαζί με τη φυσική επιλογή, τη γενετική εκτροπή και τον ανασυνδυασμό, οι μεταλλάξεις αποτελούν τον μηχανισμό της εξέλιξης και βασικό αυξητικό μηχανισμό για τη γενετική ποικιλότητα. Μπορούν να έχουν θετικό αντίκτυπο στη ζωή (όπως η λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος) ή αρνητικό (όπως οι ασθένειες: αιμοσφαιρινοπάθειες, δρεπανοκυτταρική αναιμία, γαλακτοζαιμία, καρκίνος και τα σύνδρομα: Turner, Down, Williams, Klinefelter).



Θέμα 4

Παθολογία ασθενειών – συνδρόμων που συνδέονται με το μεταβολισμό των νουκλεϊκών οξέων

Τα νουκλεϊκά οξέα (DNA και RNA) αποτελούνται από αλυσίδες νουκλεοτιδίων. Ο μεταβολισμός των νουκλεϊκών οξέων περιλαμβάνει τον αναβολισμό, δηλαδή τη βιοσύνθεσή τους και τον καταβολισμό, δηλαδή την αποικοδόμησή τους.

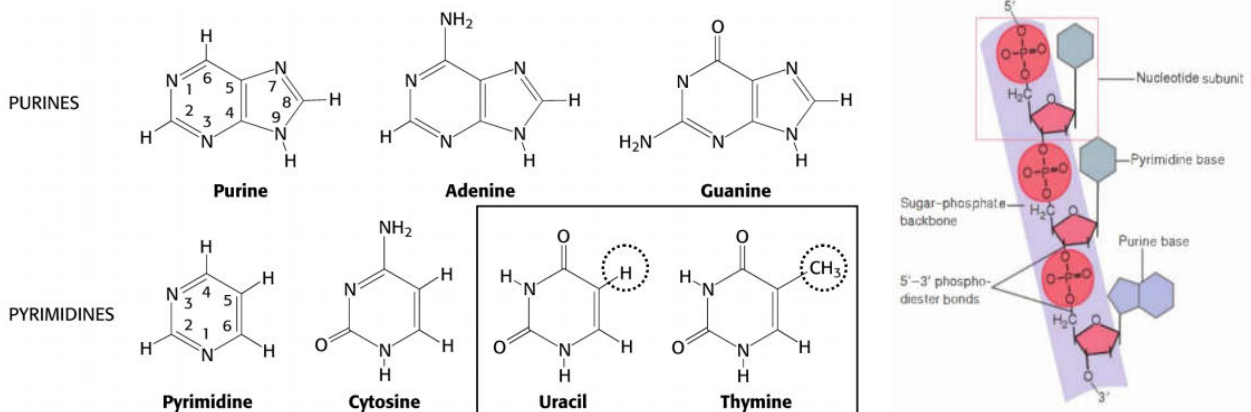


Η βιοσύνθεση (αναβολισμός) των νουκλεοτιδίων ακολουθεί δύο πορείες: α) τις πορείες de novo, όπου η βιοσύνθεση γίνεται από απλούστερες ενώσεις και β) τις πορείες περίσωσης (salvage), όπου προσχηματισμένες βάσεις ανακτώνται και συνδέονται ξανά σε μια μονάδα ριβόζης¹. Και οι δύο πορείες περιλαμβάνουν χημικές αντιδράσεις μεταξύ μιας αζωτούχας βάσης, ενός φωσφορικού οξέος και ενός σακχάρου (πεντόζης).

Η αποικοδόμηση (καταβολισμός) των νουκλεοτιδίων (που γίνεται υδρολυτικά) μπορεί να αφήσει ανέπαφα κάποια τμήματα ώστε να γίνει εκ νέου σύνθεση.

Γενικά ο μεταβολισμός των νουκλεϊκών οξέων είναι μια καταλυτική διεργασία, η οποία απαιτεί ένζυμα για την ολοκλήρωσή της. Οι ασθένειες που προκύπτουν κατά τον μεταβολισμό αυτό, οφείλονται κατά κύριο λόγο σε ελλείψεις ή ελαττώματα στα ένζυμα κατάλυσης.

Σημαντικό ρόλο στον διαχωρισμό των ασθενειών του μεταβολισμού των νουκλεϊκών οξέων παίζουν οι αζωτούχες βάσεις. Αυτές χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: τις πουρίνες (αδενίνη: A, γουανίνη: G) και τις πυριμιδίνες (κυτοσίνη: C, θυμίνη: T, ουρακίλη: U). Στο DNA υπάρχουν οι A,G,C,T και στο RNA οι A,G,C,U. Το σάκχαρο του DNA είναι η δεοξυριβόζη ενώ του RNA η ριβόζη. Βάση και σάκχαρο μας δίνουν ένα νουκλεοσίδιο. Νουκλεοσίδιο και φωσφορικό μας δίνουν νουκλεοτίδιο. Πολλά νουκλεοτίδια, κατάλληλα συνδεδεμένα με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς μας δίνουν τα νουκλεϊκά οξέα^{2,3}.



Στον αναβολισμό χρησιμοποιείται η ριβόζη PRPP, πάνω στην οποία δομούνται τα νουκλεοτίδια με τις *de novo* και *salvage* πορείες που προαναφέραμε. Στον καταβολισμό εμπλέκονται ειδικά ένζυμα, οι ενδονουκλεάσες, οι οποίες αποικοδομούν απ' το κέντρο του μορίου και τις εξωνουκλεάσες, οι οποίες αποικοδομούν απ' τα άκρα⁴.

Βασικές ασθένειες και σύνδρομα σχετίζονται με ανεπάρκειες (deficiencies) κατά τον μεταβολισμό των αζωτούχων βάσεων. Στον επόμενο πίνακα⁵ βλέπουμε συνολικά τις ανεπάρκειες σε σχέση με τον αναβολισμό (*de novo* και *salvage*) και τον καταβολισμό των πουρινών και των πυριμιδινών. Παραθέτω τους όρους στα αγγλικά γιατί η ακριβής μετάφραση όλων, κατέστη αδύνατη. Στη συνέχεια θα δούμε ορισμένες ασθένειες και σύνδρομα πιο αναλυτικά.

	Inborn Errors of Purine Metabolism	Inborn Errors of Pyrimidine Metabolism
<i>de novo</i>	Phosphoribosyl Pyrophosphate Synthetase Superactivity	UMP Synthase Deficiency (Hereditary Orotic Aciduria)
	Phosphoribosyl Pyrophosphate Synthetase Deficiency	Miller Syndrome
	Adenylosuccinase (Adenylosuccinate Lyase) Deficiency	
	AICA-Ribosiduria (ATIC Deficiency)	
<i>salvage</i>	Hypoxanthine-guanine Phosphoribosyltransferase Deficiency	Thymidine Kinase 2 Deficiency
	Adenine Phosphoribosyltransferase Deficiency	
	Deoxyguanosine Kinase Deficiency	
	Thiopurine Methyltransferase Deficiency	
	Inosine Triphosphatase Deficiency	
<i>catabolism</i>	Muscle Adenosine Monophosphate Deaminase Deficiency	Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency
	Adenylate Kinase 2 Deficiency	Dihydropyrimidinase Deficiency
	Adenosine Deaminase Deficiency	Ureidopropionase Deficiency
	Adenosine Deaminase Superactivity	Pyrimidine 5'-Nucleotidase Deficiency
	Purine Nucleoside Phosphorylase Deficiency	Cytosolic 5'-Nucleotidase Superactivity
	Xanthine Oxidase Deficiency	Thymidine Phosphorylase Deficiency
		Cytidine Deaminase Deficiency



➤ **ANABΟΛΙΣΜΟΣ de novo:**

❶ **Υπερδραστηριότητα της φωσφοριβοσυλ-πυροφωσφορικής συνθετάσης**

Phosphoribosyl Pyrophosphate Synthetase Superactivity (PRPP)⁶

Πρόκειται για ενζυμική διαταραχή που δίνει αυξημένο ρυθμό σύνθεσης πουρινών με αποτέλεσμα την υπερπαραγωγή σε ουρικό οξύ. Εκδηλώνεται κυρίως σε νεαρούς άντρες με εμφάνιση ουρικής αρθρίτιδας ή/και λιθίαση ουρικού οξέος και δυνητικά μπορεί να οδηγήσει σε νεφρική ανεπάρκεια. Υπάρχουν υψηλές τιμές ουριχαιμίας (ουρικό οξύ στο αίμα). Αυξάνεται επίσης η απέκκριση του ουρικού οξέος.

Σε λίγους ασθενείς νηπιακής ηλικίας έχει παρατηρηθεί η υπερπαραγωγή ουρικού οξέος⁷. Συνοδεύεται από νευρολογικές ανωμαλίες, κινητικά προβλήματα και αυτισμό.

Το ένζυμο φτιάχνει PRPP από 5-φωσφορική ριβόζη και ATP. Το PRPP είναι το πρώτο ενδιάμεσο της de novo σύνθεσης των νουκλεοτιδίων της πουρίνης. Η PRPP συνθετάση ρυθμίζεται σε μεγάλο βαθμό. Διάφορα γενετικά ρυθμιστικά και καταλυτικά ελαττώματα οδηγούν στην υπερδραστηριότητα με αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή PRPP. Επειδή η PRPP αμιδοτρανσφεράση (το ένζυμο περιορισμού της de novo οδού) δεν είναι φυσιολογικά κορεσμένη από PRPP, η πουρινική σύνθεση αυξάνεται, άρα και η παραγωγή ουρικού οξέος.

Διάφορες μορφές υπερδραστηριότητας της PRPP συνθετάσης, κληρονομούνται με φυλοσύνδετα γνωρίσματα. Η μοριακή διαταραχή υπάρχει στο Xq22-q26 (μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος X).

❷ **Ανεπάρκεια της Λυάσης αδενυλοηλεκτρικού**

Adenylosuccinase (Adenylosuccinate Lyase) Deficiency (ADSL)⁸

Η ADSL έχει ένα ευρύ κλινικό φάσμα: από θανατηφόρους σπασμούς σε νεογνά, νοητική καθυστέρηση, μέχρι ήπια ψυχοκινητική επιβράδυνση, μυϊκή υποτονία και αυτιστική συμπεριφορά⁹.

Η ADSL καταλύει την πουρινική σύνθεση σε δύο στάδια: την μετατροπή του SAICAR σε AICAR κατά μήκος της de novo οδού και την μετατροπή του S-AMP σε AMP. Η ανεπάρκεια της οφείλεται στη συσσώρευση ηλεκτροπουρινών (succinylpurines), SAICA ριβοζίτη και S-Ado στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και στα ούρα¹⁰. Η ανεπάρκεια

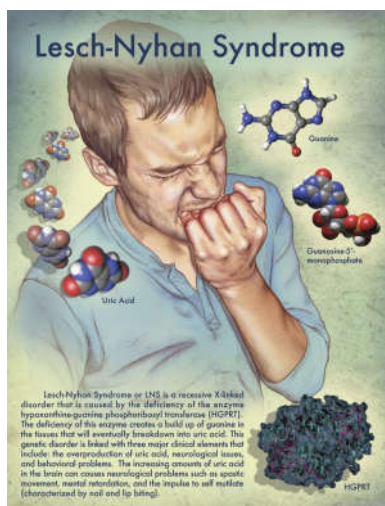
ADSL μεταδίδεται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο γνώρισμα. Μελέτες του γονιδίου ADSL (που το εντοπίσαμε στο χρωμόσωμα 22) έχουν οδηγήσει στην ταυτοποίηση περίπου 50 μεταλλάξεων¹¹. Βάση δεδομένων για τις ADSL μεταλλάξεις υπάρχει στο διαδίκτυο, στη διεύθυνση ADSLdb.

➤ **ANABOΛΙΣΜΟΣ** περίσωσης (salvage):

③ **Ανεπάρκεια στην φωσφοριβοσυλτρανσφεράση της υποξανθίνης – γουανίνης**

Hypoxanthine – Guanine Phosphoribosyltransferase Deficiency (HPRT)¹²

Ανεπάρκεια που καθορίζεται από την υπολειμματική δράση του ενζύμου HPRT. Ασθενείς με πλήρη (ή σχεδόν) έλλειψη της HPRT, παρουσιάζουν το σύνδρομο Lesch – Nyhan¹³.



Πάσχοντα βρέφη που αρχικά φαίνονται φυσιολογικά, παρουσιάζουν στους 3-6 μήνες ένα νευρολογικό σύνδρομο που εξελίσσεται και περιλαμβάνει καθυστέρηση στην κίνηση, χορειο-αθετοειδείς κινήσεις και σπαστικότητα στην αύξηση των αντανακλαστικών. Με τα χρόνια, οι ασθενείς αναπτύσσουν ένα εντυπωσιακό νευροψυχολογικό προφίλ, το οποίο περιλαμβάνει ψυχαναγκαστική αυτοκαταστροφική συμπεριφορά (δάγκωμα δακτύλων και χειλιών μέχρι τραυματισμού και ακρωτηριασμού!).

Επίσης περιλαμβάνεται επιθετική συμπεριφορά, τόσο σωματική όσο και λεκτική προς τρίτους (πχ φτύσιμο) και χρήση άσχημου λεξιλογίου. Η ομιλία παρεμποδίζεται από αθετοειδή δυσarthρία. Αν και έχουν παρατηρηθεί φυσιολογικές νοημοσύνες (IQ~100), οι περισσότερες κυμαίνονται από 60-70 IQ. Το 50% των ασθενών παρουσιάζουν κρίσεις¹⁴.

Η έλλειψη του HPRT προκαλεί αδυναμία αναγέννησης των πουρινών από βάσεις υποξανθίνης – γουανίνης. Η έλλειψη αυτή οφείλεται σε απώλεια στο φυλοσύνδετο γονίδιο HGPRT και τελικά σε κατάργηση της ενζυμικής δραστηριότητας. Μέχρι στιγμής έχουν περιγραφεί πάνω από 250 μεταλλάξεις του γονιδίου HPRT, από μεταλλάξεις σημείου (point mutations) μέχρι εκτεταμένες διαγραφές με αποτέλεσμα την καταστολή της σύνθεσης του ενζύμου¹⁵.

4 Ανεπάρκεια φωσφοριβοσυλτρανσφεράσης της αδενίνης

Adenine Phosphoribosyltransferase Deficiency (APRTD)¹⁶

Ανεπάρκεια που εκδηλώνεται από τη παιδική ηλικία (ή και κατά τη γέννηση) αλλά μπορεί να παραμείνει σιωπηλή για αρκετές δεκαετίες. Με συμπτώματα τον σχηματισμό κρυστάλλων στα ούρα, λίθων στα νεφρά, κοιλιακό πόνο, δυσουρία, αιματουρία και λοιμώξεις του ουροποιητικού. Υπάρχουν και περιπτώσεις οξείας νεφρικής ανεπάρκειας με ανουρία.

Η ανεπάρκεια έχει ως αποτέλεσμα την καταστολή της περίσωσης (salvage) της αδενίνης που προέρχεται από την τροφή και τον δρόμο της πολυαμίνης. Έτσι η αδενίνη οξειδώνεται, από ξανθίνη οξειδάση, σε 2,8-διυδροξυαδενίνη (μια ένωση με χαμηλή διαλυτότητα στα ούρα και αποτέλεσμα τον σχηματισμό κρυστάλλων και πετρών). Η ανεπάρκεια μπορεί να είναι μερική (μόνο στους Ιάπωνες¹⁷) ή πλήρης.

Η ανεπάρκεια της APRTD κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτηριστικό.

➤ ΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ:

5 Ανεπάρκεια μονοφωσφορικής διαμινάσης της μυϊκής αδενοσύνης

Muscle Adenosine Monophosphate Deaminase Deficiency (AMP-DA)¹⁸

Η ανεπάρκεια της μυϊκής διαμινάσης (AMP-DA) απαντάται στο 1-2% της καυκάσιας φυλής. Πρόκειται για ασυμπτωματική ανεπάρκεια. Σε ορισμένα όμως άτομα εμφανίζεται μυϊκή αδυναμία, κόπωση, κράμπες ή μυαλγίες μετά από μέτρια έως έντονη άσκηση. Η ανεπάρκεια AMP-DA προκαλείται από απομείωση της παραγωγής ενέργειας για τη συστολή των μυών. Ωστόσο αυτό δεν είναι αρκετό για να δικαιολογήσει τον τεράστιο αριθμό των ασυμπτωματικών ασθενών και φαίνεται ότι η ανεπάρκεια ίσως έχει ένα συνεργατικό αποτέλεσμα σε σχέση με άλλες διαταραχές. Μύες, ήπαρ και ερυθρά αιμοσφαίρια περιέχουν διάφορες ισομορφές της AMP-DA. Μια κανονική μετάλλαξη της AMP-DA του ήπατος έχει προταθεί ως μια αιτία για την πρωτογενή ουρική αρθρίτιδα (gout) με υπερπαραγωγή ουρικού οξέος¹⁹. Η πρωτογενής AMP-DA ανεπάρκεια μεταδίδεται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτηριστικό. Στους περισσότερους προκαλείται από c.34C→T μετάλλαξη, η οποία καταλήγει σε ένα ανενεργό ένζυμο.

6 Ανεπάρκεια της Οξειδάσης της Ξανθίνης

Xanthine Oxidase Deficiency (XO)²⁰

Τρεις τύποι XO ανεπάρκειας είναι γνωστοί. Και οι τρεις τύποι προκαλούν ξανθινουρία:

1) τύπου I κλασική ξανθινουρία όπου προκαλείται από απομονωμένη XO ανεπάρκεια, 2) τύπου II κλασική ξανθινουρία όπου προκαλείται από ανεπάρκεια XO και ανεπάρκεια AO (οξειδάσης της αλδεΐδης), 3) συνδυασμός ανεπαρκειών XO, AO και θειώδους οξειδάσης. Οι τύποι I και II ξανθινουρίας είναι τελείως ασυμπτωματικοί, αν και το 1/3 των περιπτώσεων είχαν σχηματισμό λίθων στα νεφρά. Αν και μη ορατοί με ακτίνες X, μπορούν να εμφανιστούν σε οποιαδήποτε ηλικία και να προκαλέσουν αιματουρία, κολικό του νεφρού ή/και οξεία νεφρική ανεπάρκεια.

Η ανεπάρκεια της XO έχει ως αποτέλεσμα την (σχεδόν ολική) αντικατάσταση του ουρικού οξέος, στο πλάσμα και στα ούρα, με υποξανθίνη και ξανθίνη, ως τα τελικά προϊόντα του καταβολισμού της πουρίνης. Η μικρή διαλυτότητα της ξανθίνης εξηγεί τον σχηματισμό λίθων στα νεφρά.

Οι τρεις τύποι της XO ανεπάρκειας κληρονομούνται ως αυτοσωμικό υπολειπόμενο. Η τύπου I προκαλείται από μεταλλάξεις του γονιδίου XO. Η τύπου II προκαλείται από μεταλλάξεις του γονιδίου MoCo sulfurase (HMCS).

Περισσότερες από 30 μεταλλάξεις της συνδυασμένης XO, AO & θειώδους οξειδάσης έχουν καταγραφεί. Η πλειοψηφία αυτών έχουν μεταλλάξεις του γονιδίου MOCS1²¹.



➤ **ΑΝΑΒΟΛΙΣΜΟΣ de novo:**

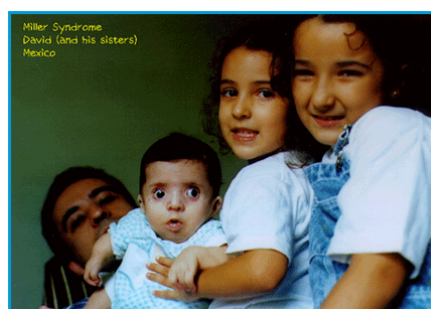
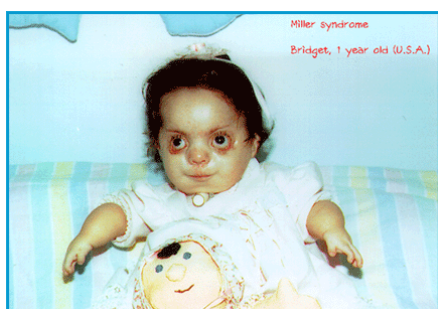
7 **Ανεπάρκεια UMP Συνθάσης (κληρονομική οροτική οξυουρία)**

UMP Synthase Deficiency (hereditary orotic aciduria)²²

Η πρώτη εκδήλωση είναι συνήθως η μεγαλοβλαστική αναιμία (λίγες εβδομάδες ή μήνες μετά τη γέννηση). Χαρακτηριστικό είναι πως η αναιμία δεν ανταποκρίνεται στο σίδηρο, στο φυλλικό οξύ ή στην βιταμίνη B12. Αν η ανωμαλία δεν διαγνωστεί εγκαίρως οδηγεί σε αποτυχία ανάπτυξης, επιβράδυνση της ανάπτυξης και της ψυχοκινητικής ανάπτυξης. Η κληρονομική οροτική οξυουρία αποτελεί αυτοσωμικό υπολειπόμενο νόσημα. Προκαλείται από ανεπάρκεια της δραστηριότητας του ενζύμου UMP μονοφωσφορική ουριδίνη συνθάση. Πρόκειται για ένα δι-λειτουργικό ένζυμο της de novo σύνθεσης των πυριμιδινών. Η ανεπάρκεια δημιουργεί υπερπαραγωγή οροτικού οξέος λόγω μείωσης της αναστολής ανάδρασης (feedback inhibition) που ασκείται από τα νουκλεοτίδια πυριμιδίνης στο πρώτο ένζυμο της de novo σύνθεσής τους. Τελικά έχουμε έλλειψη νουκλεοτιδίων πυριμιδίνης. Η ανεπάρκεια των νουκλεοτιδίων πυριμιδίνης έχει ως αποτέλεσμα την ανεπάρκεια στην κυτταρική διαίρεση και τελικά τα συμπτώματα που αναφέραμε στην αρχή.

8 **Σύνδρομο Miller**²²

Σπάνια γενετική πάθηση με χαρακτηριστικές δυσμορφίες κρανίου – προσώπου και άκρων. Πρόσφατα ταυτοποιήθηκαν ασθενείς με μετάλλαξη του γονιδίου DHODH. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί τη διυδροοροτική αφυδρογονάση, η οποία καταλύει το 4^ο βήμα της de novo πυριμιδινικής σύνθεσης. Δεν έχει ακόμη κατανοηθεί ο μηχανισμός που προκαλεί τις δυσμορφίες από την μετάλλαξη του DHODH.



➤ **ANABOΛΙΣΜΟΣ περίσωσης (salvage):**

⑨ **Ανεπάρκεια Θυμιδίνης Κινάσης 2**

Thymidine Kinase 2 Deficiency²³

Αρχικά καταγράφηκε σε 4 άσχετους μεταξύ τους ασθενείς με σοβαρή απομονωμένη μυοπάθεια (isolated myopathy), κινητική παλινδρόμηση (motor regression) και πρόωμο θάνατο. Το κλινικό φάσμα της ανεπάρκειας έχει πια επεκταθεί περιλαμβάνοντας μυϊκή ατροφία σπονδυλικής στήλης, σύνδρομο άκαμπτης σπονδυλικής στήλης και μια ηπιότερη μυοπάθεια, χωρίς παλινδρόμηση ή πρόωμο θάνατο. Η ανεπάρκεια οφείλεται στην εξάντληση του μυϊκού μιτοχονδριακού DNA και προκαλείται από μεταλλάξεις του γονιδίου που κωδικοποιεί την θυμιδίνη κινάση 2 (που είναι η μιτοχονδριακή μορφή του ενζύμου περίσωσης της θυμιδίνης)²⁴.

Η ανεπάρκεια πιθανώς προκαλεί ανισορροπία των μιτοχονδριακών νουκλεοτιδίων η οποία διαταράσσει την αντιγραφή του μιτοχονδριακού DNA.

➤ **ΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ:**

⑩ **Ανεπάρκεια Διυδροπυριμιδινικής Αφυδρογονάσης**

Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency (DPD)²⁵

Δύο μορφές έχουν καταγραφεί: 1) σε παιδιά με εμφάνιση επιληψίας, κινητική και νοητική καθυστέρηση και συχνά υπέρταση, αύξηση αντανεκλαστικών, καθυστερημένη ανάπτυξη, δυσμορφίες (μικροκεφαλία) και αυτισμό. Η έλλειψη της DPD είναι πλήρης ή σχεδόν πλήρης. 2) σε ενήλικους που λαμβάνουν το αντικαρκινικό φάρμακο με ανάλογο πυριμιδίνης 5-φθοροουρακίλης. Χαρακτηρίζεται από σοβαρή τοξικότητα που εκδηλώνεται με ουδετεροπενία (neutropenia), στοματίτιδα, διάρροια και νευρολογικά συμπτώματα (αταξία, παράλυση και νάρκη). Η έλλειψη DPD είναι μερική και αποκαλύπτεται μόνο μετά την θεραπεία με 5-φθοροουρακίλη.

Η ανεπάρκεια της DPD, η οποία καταλύει τον καταβολισμό της ουρακίλης σε διυδροουρακίλη και της θυμίνης σε διυδροθυμίνη, οδηγεί στη συσσώρευση αυτών των ενώσεων (ουρακίλης και θυμίνης).

Η βρεφική ανεπάρκεια DPD, κληρονομείται ως αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτηριστικό. Η ενήλικη ανεπάρκεια DPD, χαρακτηρίζεται από τοξικότητα της 5-φθοροουρακίλης. Περίπου το ¼ των ασθενών ήταν ετεροζυγώτες για την IVS14+1G>A μετάλλαξη²⁶.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 4^ο Θέματος

1. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Βιοχημεία. *ΠΕΚ.*; Τόμος II Κεφ.25, σελ. 782, 2006
2. Krebs JE, Goldstein ES, Kilpatrick ST. Lewin's Genes XI. *Εκδόσεις Jones & Bartlett Learning.*; Κεφ.1, σελ. 7, 2014
3. Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Βασικές Αρχές Κυτταρικής Βιολογίας. *Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ.Πασχαλίδης.*; Τόμος II Κεφ.5, σελ. 209, 2006
4. Γεωργιάτσος Ι. Βιοχημεία. *Εκδόσεις ΕΑΠ.*; Τόμος Β' Κεφ.6, σελ. 156, 2000
5. Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH. Inborn Metabolic Diseases. *Springer.*; Κεφ.36, σελ. 501-515, 2012
6. Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH. Inborn Metabolic Diseases. *Springer.*; Κεφ.36, σελ. 501-502, 2012
7. Becker MA, Puig JG, Mateos FA, Jimenez ML, Kim M, Simmonds HA. Inherited superactivity of phosphoribosylpyrophosphate synthetase: association of uric acid overproduction and sensorineural deafness. *Am J Med.*, 85(3):383-90, 1988 ([link](#))
8. Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH. Inborn Metabolic Diseases. *Springer.*; Κεφ.36, σελ. 502-503, 2012
9. Jaeken J, Van den Berghe G. An infantile autistic syndrome characterised by the presence of succinylpurines in body fluids. *Lancet.*, 2(8411):1058-61, 1984 ([link](#))
10. Van den Berghe G, Vincent MF, Jaeken J. Inborn errors of the purine nucleotide cycle: adenylosuccinase deficiency. *J Inherit Metab Dis.*, (2):193-202, 1997 ([link](#))
11. Stone RL, Aimi J, Barshop BA, Jaeken J, Van den Berghe G, Zalkin H, Dixon JE. A mutation in adenylosuccinate lyase associated with mental retardation and autistic features. *Nat Genet.*, (1):59-63, 1992 ([link](#))
12. Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH. Inborn Metabolic Diseases. *Springer.*; Κεφ.36, σελ. 507-508, 2012
13. Official website of the Lesch – Nyhan disease international study group ([link](#))
14. Jinnah HA, Ceballos-Picot I, Torres RJ, Visser JE, Schretlen DJ, Verdu A, Laróvere LE, Chen CJ, Cossu A, Wu CH, Sampat R, Chang SJ, de Kremer RD, Nyhan W, Harris JC, Reich SG, Puig JG. Attenuated variants of Lesch-Nyhan disease. *Brain*, 133(Pt 3):671-89, 2010 ([link](#))
15. Jinnah HA, De Gregorio L, Harris JC, Nyhan WL, O'Neill JP. The spectrum of inherited mutations causing HPRT deficiency: 75 new cases and a review of 196 previously reported cases. *Mutat Res.*, 463(3):309-26, 2000 ([link](#))

16. Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH. Inborn Metabolic Diseases. *Springer.*; Κεφ.36, σελ. 509, 2012
17. Hidaka Y, Tarlé SA, Fujimori S, Kamatani N, Kelley WN, Palella TD. Human adenine phosphoribosyltransferase deficiency. Demonstration of a single mutant allele common to the Japanese. *J Clin Invest.*, 81(3): 945–950, 1988 ([link](#))
18. Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH. Inborn Metabolic Diseases. *Springer.*; Κεφ.36, σελ. 503-504, 2012
19. Hers HG, Van Den Berghe G. Enzyme defect in primary gout. *Lancet.*, 1(8116):585-6, 1979 ([link](#))
20. Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH. Inborn Metabolic Diseases. *Springer.*; Κεφ.36, σελ. 506-507, 2012
21. Ichida K, Amaya Y, Kamatani N, Nishino T, Hosoya T, Sakai O. Identification of two mutations in human xanthine dehydrogenase gene responsible for classical type I xanthinuria. *J Clin Invest.*, 99(10):2391-7, 1997 ([link](#))
22. Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH. Inborn Metabolic Diseases. *Springer.*; Κεφ.36, σελ. 512, 2012
23. Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH. Inborn Metabolic Diseases. *Springer.*; Κεφ.36, σελ. 515, 2012
24. Oskoui M, Davidzon G, Pascual J, Erazo R, Gurgel-Giannetti J, Krishna S, Bonilla E, De Vivo DC, Shanske S, DiMauro S. Clinical spectrum of mitochondrial DNA depletion due to mutations in the thymidine kinase 2 gene. *Arch Neurol.*, 63(8):1122-6, 2006 ([link](#))
25. Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH. Inborn Metabolic Diseases. *Springer.*; Κεφ.36, σελ. 513, 2012
26. van Kuilenburg AB. Dihydropyrimidine dehydrogenase and the efficacy and toxicity of 5-fluorouracil. *Eur J Cancer.*, 40(7):939-50, 2004 ([link](#))



