



Ελληνική Δημοκρατία
Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό
Ίδρυμα Ηπείρου

Βιοχημεία - Αρχές Βιοτεχνολογίας

Ενότητα 11: Δομή και λειτουργία του RNA

Γεώργιος Παπαδόπουλος



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων

Βιοχημεία - Αρχές Βιοτεχνολογίας

Ενότητα 11: Δομή και λειτουργία του RNA

Γεώργιος Παπαδόπουλος

Καθηγητής

Άρτα, 2015



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.





Χρηματοδότηση

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



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



Σύνθεση DNA και RNA

- Σύνθεση DNA
- Ιδιότητες DNA πολυμεράσης
- Ανασυνδυασμένο DNA, βιοτεχνολογία
- Συμπεράσματα
- Σύνθεση RNA
- Ιδιότητες RNA πολυμεράσης
- Συμπεράσματα



Σύνθεση DNA

- **Αντιγραφή** ολόκληρου του DNA (π.χ. μίτωση, μείωση) μόνο όταν διπλασιάζεται το κύτταρο (ανάπτυξη, παραγωγή ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων, επούλωση πληγών κλπ).
- Επιδιόρθωση μικρού μέρους του DNA.
Ποσοστό $< 0,1 \%$. Μηχανισμός επιτήρησης
- Στα κύτταρα που δεν διπλασιάζονται επίλεκτα γονίδια **μεταγράφονται** σε RNA



Πόσα γονίδια έχουν οι οργανισμοί;

- Ανώτερα ζώα και φυτά: ~ 23.000
- Βακτήρια: ~2.000
- Ιοί: ~10, ενίοτε και περισσότερα
- Στα ανώτερα ζώα και φυτά, τα γονίδια αποτελούν μόνο το ~ 5 % του συνολικού DNA.

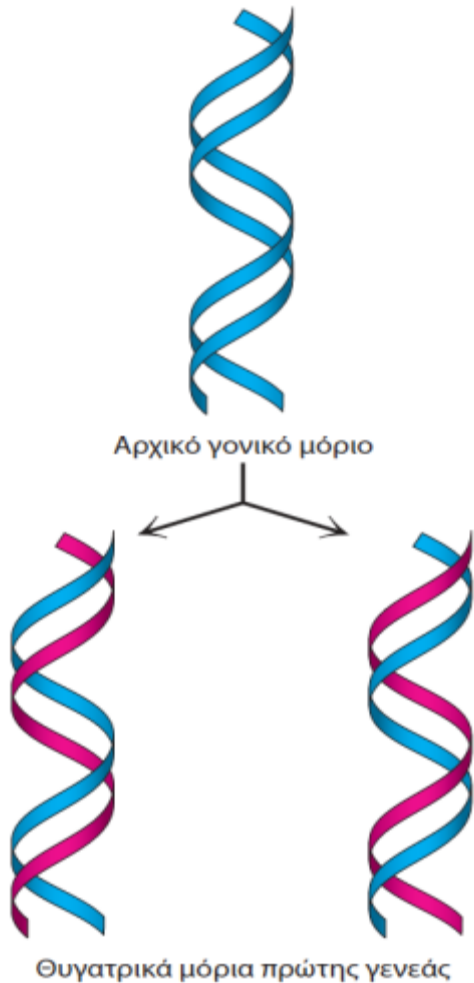


Το DNA στα ευκαρυωτικά κύτταρα

- Κατανεμημένο σε χρωμοσώματα, όπου η αλυσίδα του είναι συνεχής
- Περιβάλλεται από πρωτεΐνες
- 1 μέσο ανθρώπινο χρωμόσωμα ~ 1.000 γονίδια

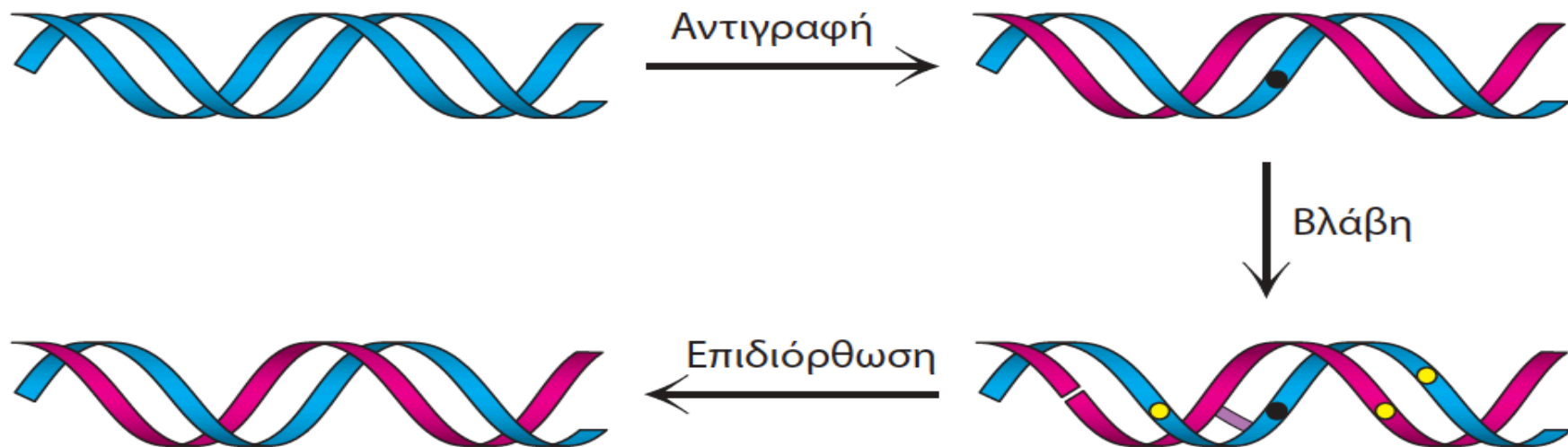
.....

- Παράδειγμα με κλωστή και κουβαρίστρα

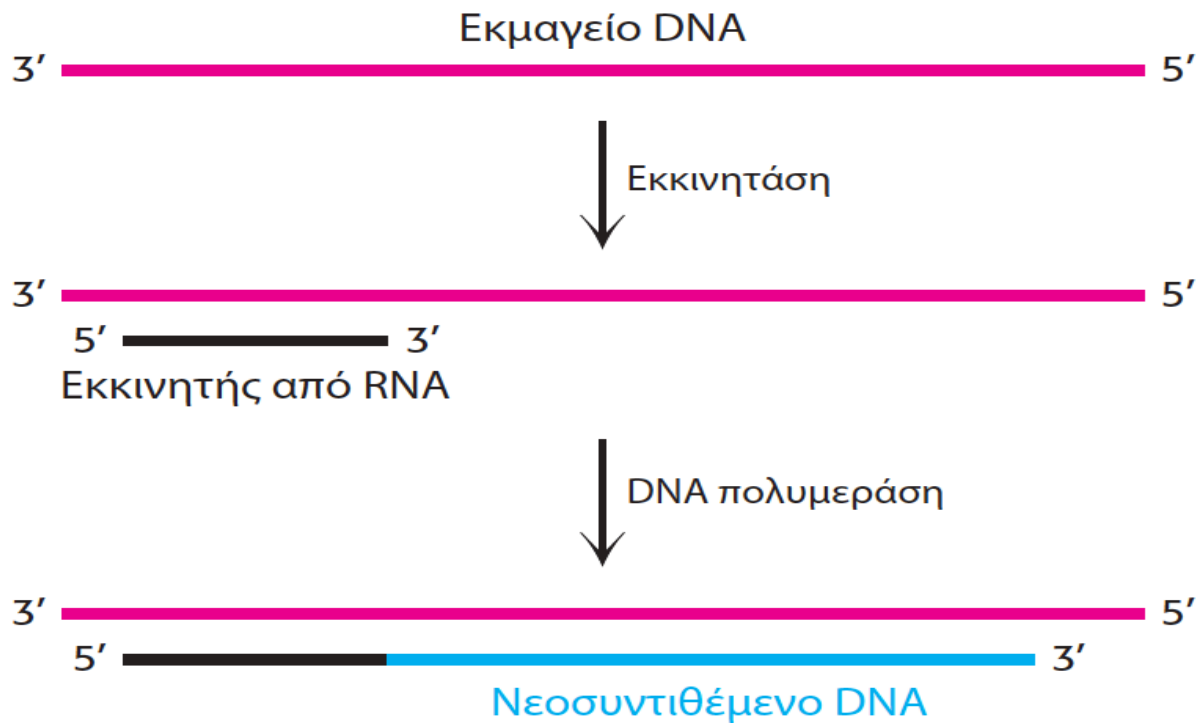


ΤΟ ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΑΠΑΙΤΕΙ ΠΙΣΤΗ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

Εικόνα 28.1 Αντιγραφή του DNA. Κάθε κλώνος μιας διπλής έλικας (εμφανίζεται με μπλε χρώμα) λειτουργεί ως εκμαγείο για τη σύνθεση ενός νέου, συμπληρωματικού κλώνου (εμφανίζεται με κόκκινο χρώμα).

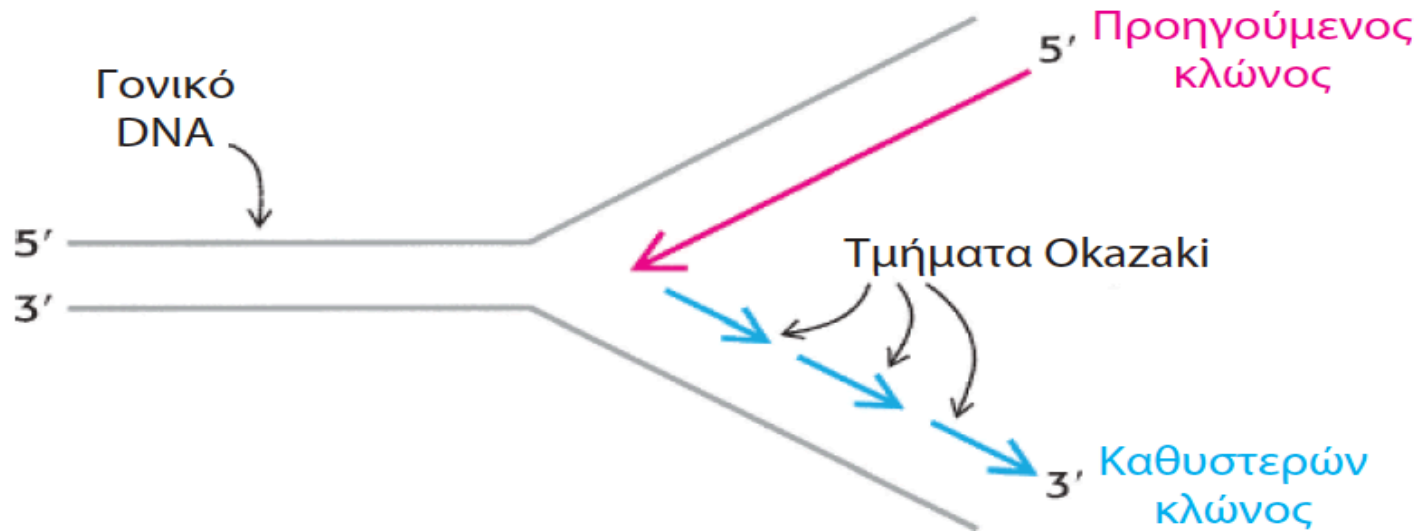


Εικόνα 28.2 Αντιγραφή, βλάβη και επιδιόρθωση του DNA. Κατά τη διεργασία της αντιγραφής μπορεί να προκύψουν ορισμένα σφάλματα (παρουσιάζονται ως μαύρη κηλίδα). Επιπλέον αλλοιώσεις (εμφανίζονται με κίτρινο χρώμα), όπως τροποποιημένες βάσεις, διασυνδέσεις, μονόκλωνες και δίκλωνες θραύσεις, εισάγονται στο DNA από επακόλουθες αντιδράσεις πρόκλησης βλαβών του DNA. Πολλά από αυτά τα σφάλματα ανιχνεύονται και ακολούθως επιδιορθώνονται.



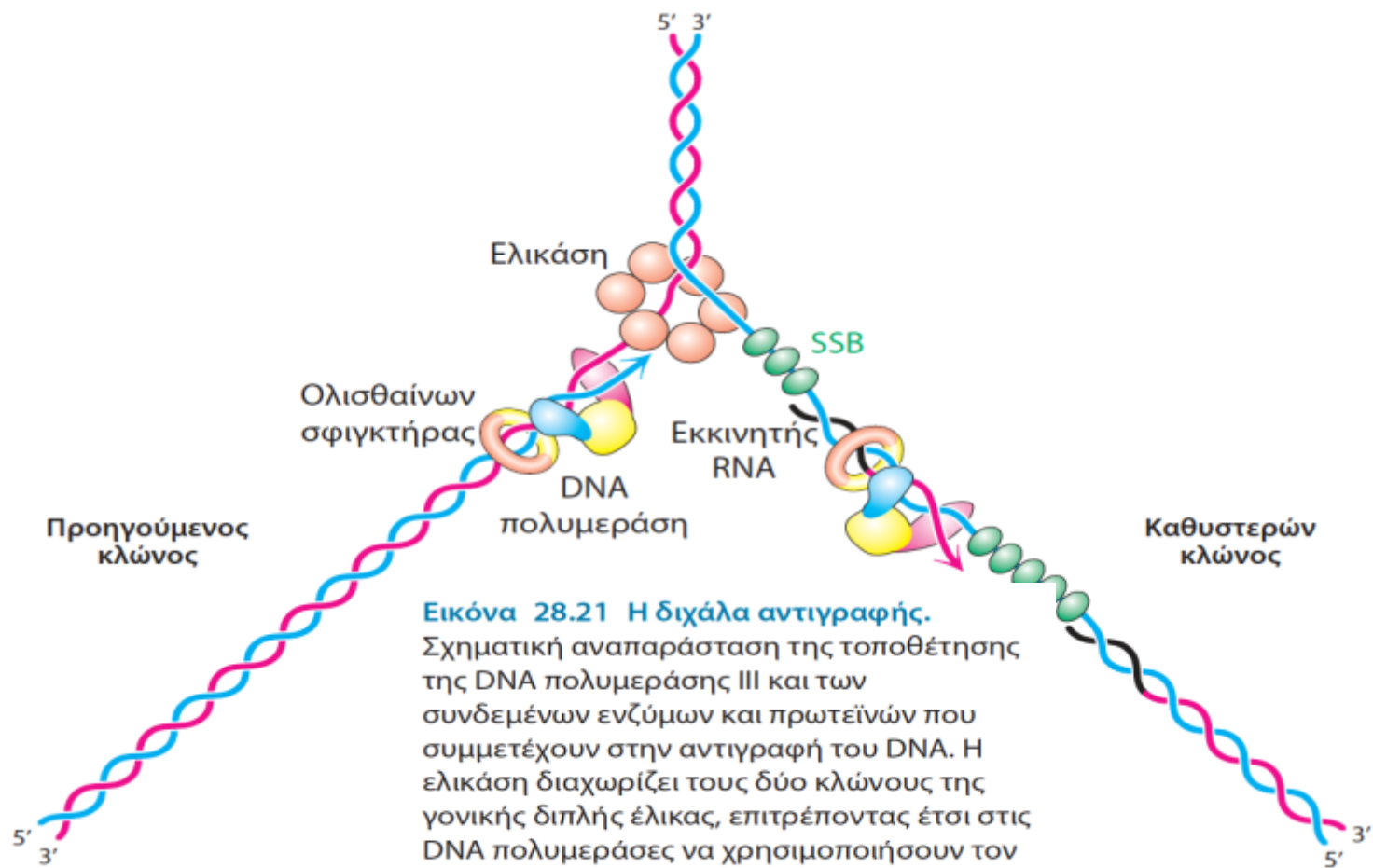
τως και
κίνητή.
ρύνεται

Εικόνα 28.8 Η εκκίνηση. Η αντιγραφή του DNA εκκινείται από ένα μικρό τμήμα RNA, το οποίο συντίθεται από την εκκινητάση, μια RNA πολυμεράση. Ο εκκινητής από RNA αφαιρείται σε μεταγενέστερο στάδιο της αντιγραφής.



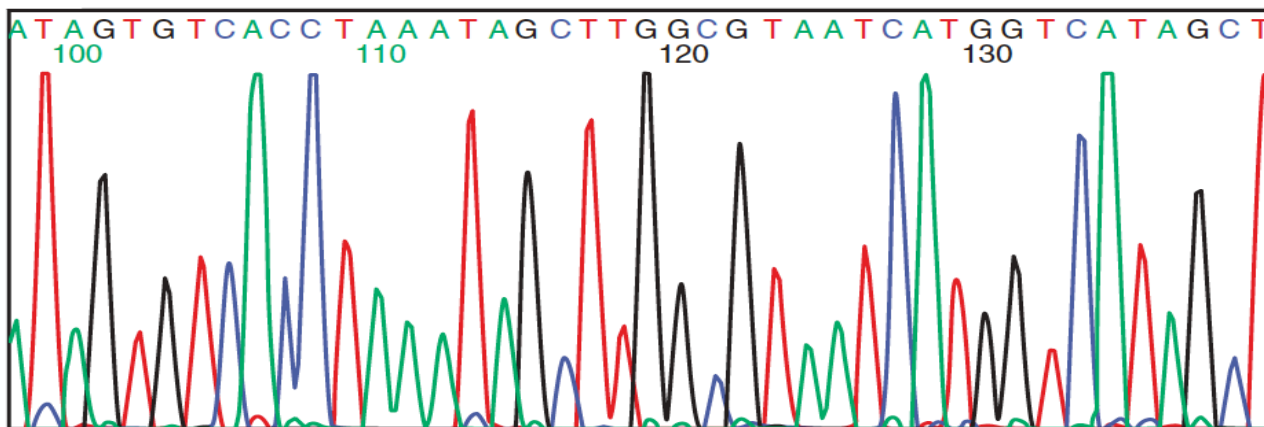
Εικόνα 28.9 Τμήματα Okazaki. Σε μια διχάλα αντιγραφής και οι δύο κλώνοι συντίθενται στην κατεύθυνση $5' \rightarrow 3'$. Ο προηγούμενος κλώνος συντίθεται συνεχώς, ενώ ο καθυστερών κλώνος συντίθεται κατά μικρά τεμάχια τα οποία ονομάζονται τμήματα Okazaki.

ωψε ότι
ιατα. Οι
ι τμήμα-
διχάλας



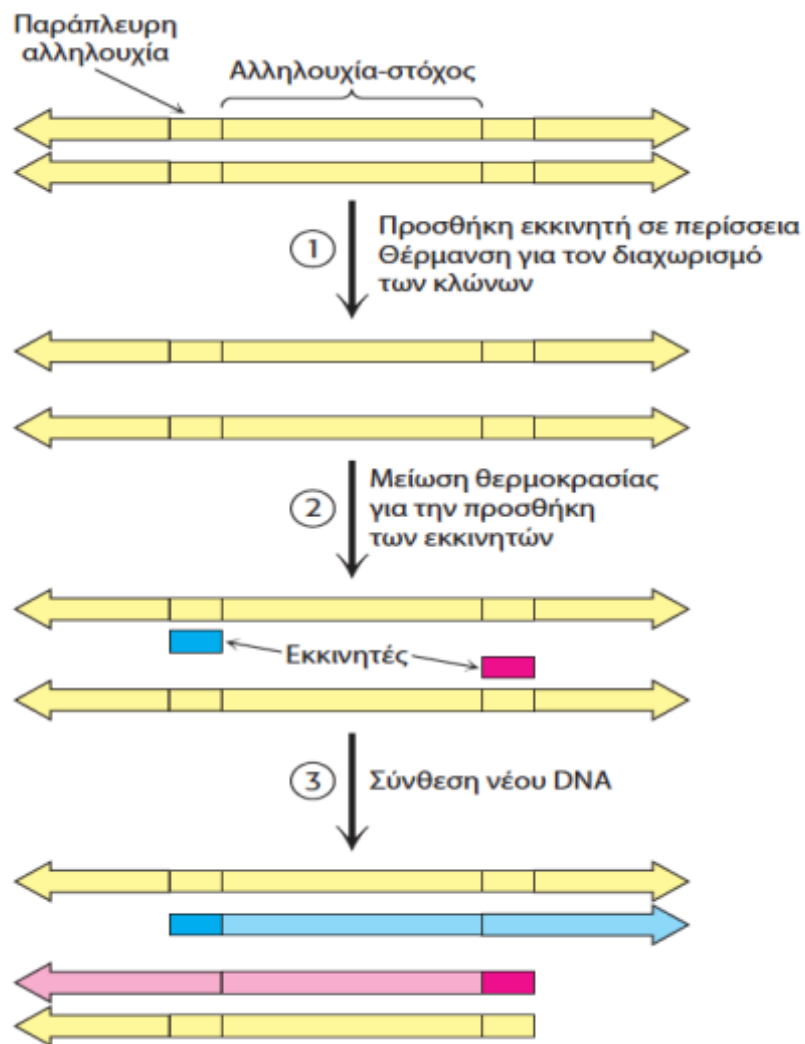
Εικόνα 28.21 Η διχάλα αντιγραφής.

Σχηματική αναπαράσταση της τοποθέτησης της DNA πολυμεράσης III και των συνδεμένων ενζύμων και πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην αντιγραφή του DNA. Η ελικάση διαχωρίζει τους δύο κλώνους της γονικής διπλής έλικας, επιτρέποντας έτσι στις DNA πολυμεράσες να χρησιμοποιήσουν τον κάθε κλώνο ως εκμαγείο για τη σύνθεση του DNA. Συντομογραφία: SSB, single-stranded binding protein (πρωτεΐνη δέσμευσης μονόκλωνου DNA).

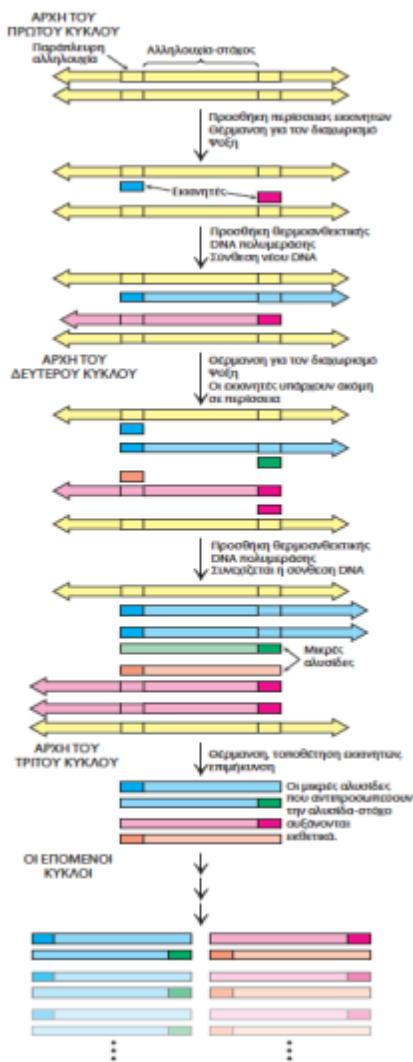


ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ, ΠΕΚ 2014

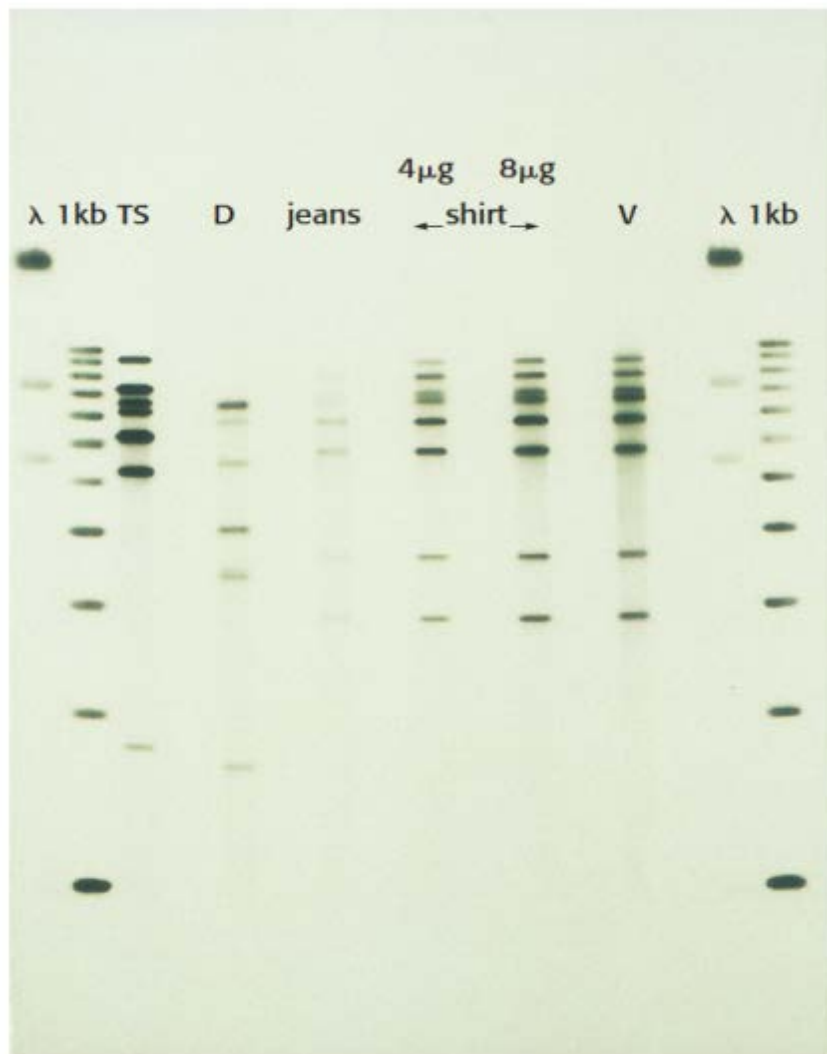
Εικόνα 5.5 Ανίχνευση μέσω φθορισμού των θραυσμάτων ολιγονουκλεοτιδίων που παράγονται με τη μέθοδο των διδεοξυαναλόγων. Η αντίδραση ταυτοποίησης μιας αλληλουχίας πραγματοποιείται παρουσία τεσσάρων διδεοξυ νουκλεοτιδίων, τα οποία τερματίζουν την επιμήκυνση της αλυσίδας και κάθε ένα είναι σημασμένο με μια ομάδα, η οποία φθορίζει σε διαφορετικό μήκος κύματος (π.χ. κόκκινο για την Τ). Κάθε ένα από τα τέσσερα χρώματα αντιπροσωπεύει μια διαφορετική βάση στο χρωματογραφικό ίχνος που παράγεται από τη μέτρηση του φθορισμού στα τέσσερα μήκη κύματος. [Κατά A. J. F. Griffiths et al., *An introduction to Genetic analysis*, 8th ed. (W. H. Freeman and Company, 2005).]



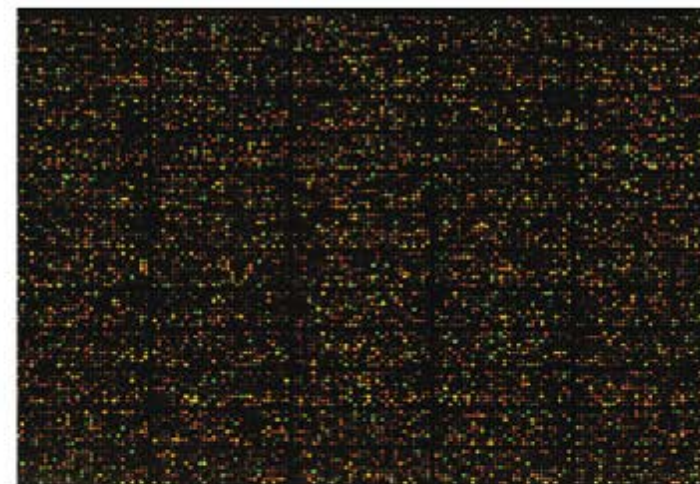
Εικόνα 5.7 Ο πρώτος κύκλος στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR). Ένας κύκλος αποτελείται από τρία στάδια: διαχωρισμός των αλυσίδων, υβριδοποίηση των εκκινητών και επιμήκυνση των εκκινητών μέσω σύνθεσης DNA.



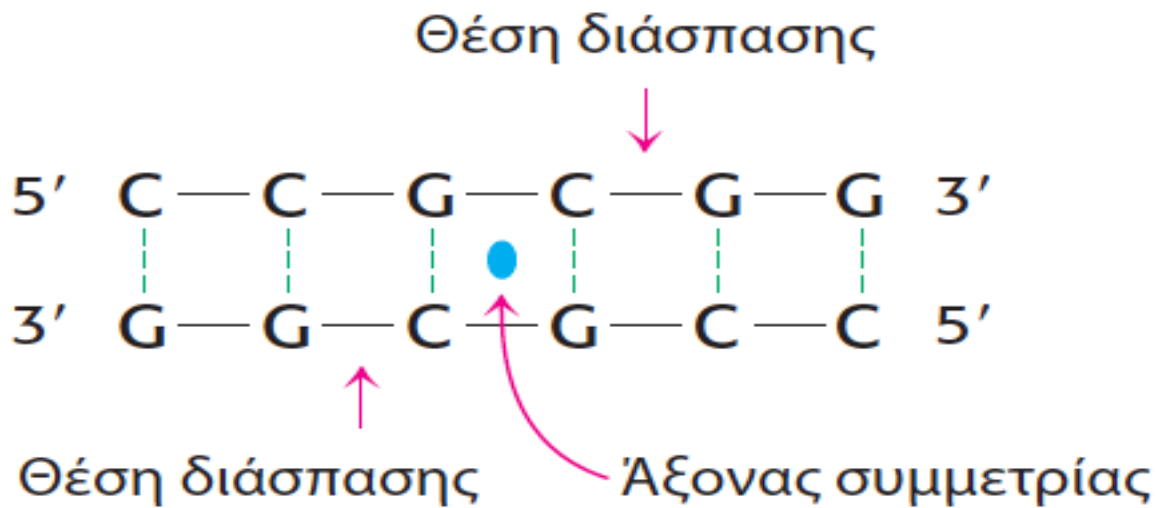
Εικόνα 5.8 Πολλαπλοί κύκλοι της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης. Οι δύο μικρές αλυσίδες που παράγονται στο τέλος του τρίτου κύκλου (μαζί με κάπως μεγαλύτερες αλυσίδες που δεν εμφανίζονται στο σχήμα) αντιπροσωπεύουν την αλληλουχία-στόχο. Οι επόμενοι κύκλοι θα αυξήσουν εκθετικά την ποσότητα της αλληλουχίας αυτής και κατά αριθμητική πρόοδο τη γονική αλληλουχία.

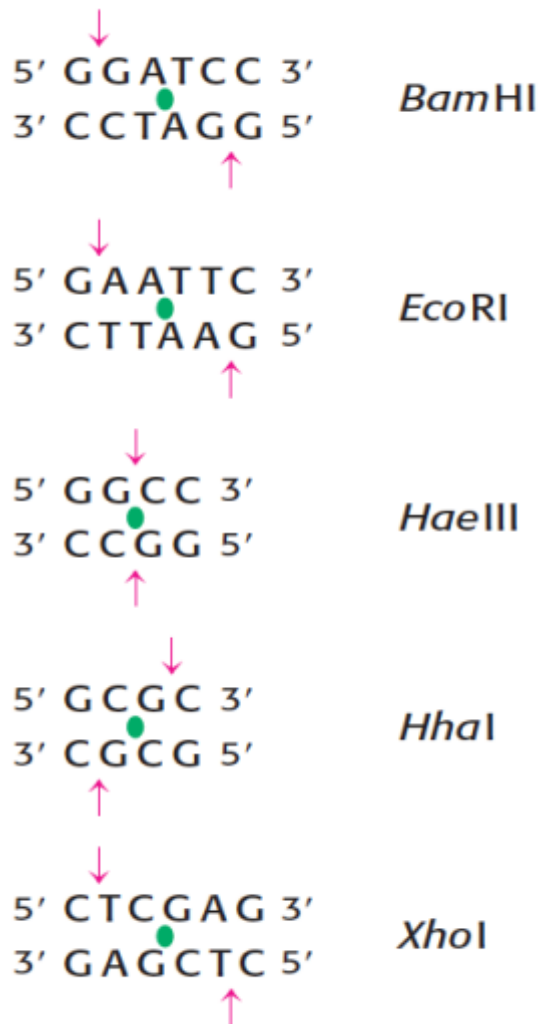


Εικόνα 5.9 DNA και ιατροδικαστική. DNA το οποίο απομονώθηκε από κηλίδες αίματος στα ενδύματα ενός κατηγορουμένου, ενισχύθηκε μέσω PCR και συγκρίθηκε με DNA, τόσο του θύματος όσο και του υπόπτου, μέσω ηλεκτροφόρησης σε πηκτή και αυτοραδιογραφίας. Το DNA από τις κηλίδες αίματος των ενδυμάτων του κατηγορουμένου ήταν ίδιο με το DNA του θύματος, αλλά όχι με εκείνο του κατηγορουμένου. Η συχνότητα τυχαίας σύμπτωσης του σχήματος ζώνωσης του DNA στα ενδύματα με εκείνο του θύματος ανέρχεται σε περίπου 1 στα 33 δισεκατομμύρια. Οι διαδρομές των δειγμάτων λ, 1 kb και TS αναφέρονται σε δείγματα-μάρτυρες DNA· D: DNA του κατηγορουμένου, jeans και shirt: DNA απομονωμένο από κηλίδες αίματος στο παντελόνι και το πουκάμισο του κατηγορουμένου (αναλύθηκαν δύο διαφορετικές ποσότητες DNA· V: δείγμα DNA από το αίμα του θύματος. [Ευγενική προσφορά Cellmark Diagnostics, Germantown, Maryland.]

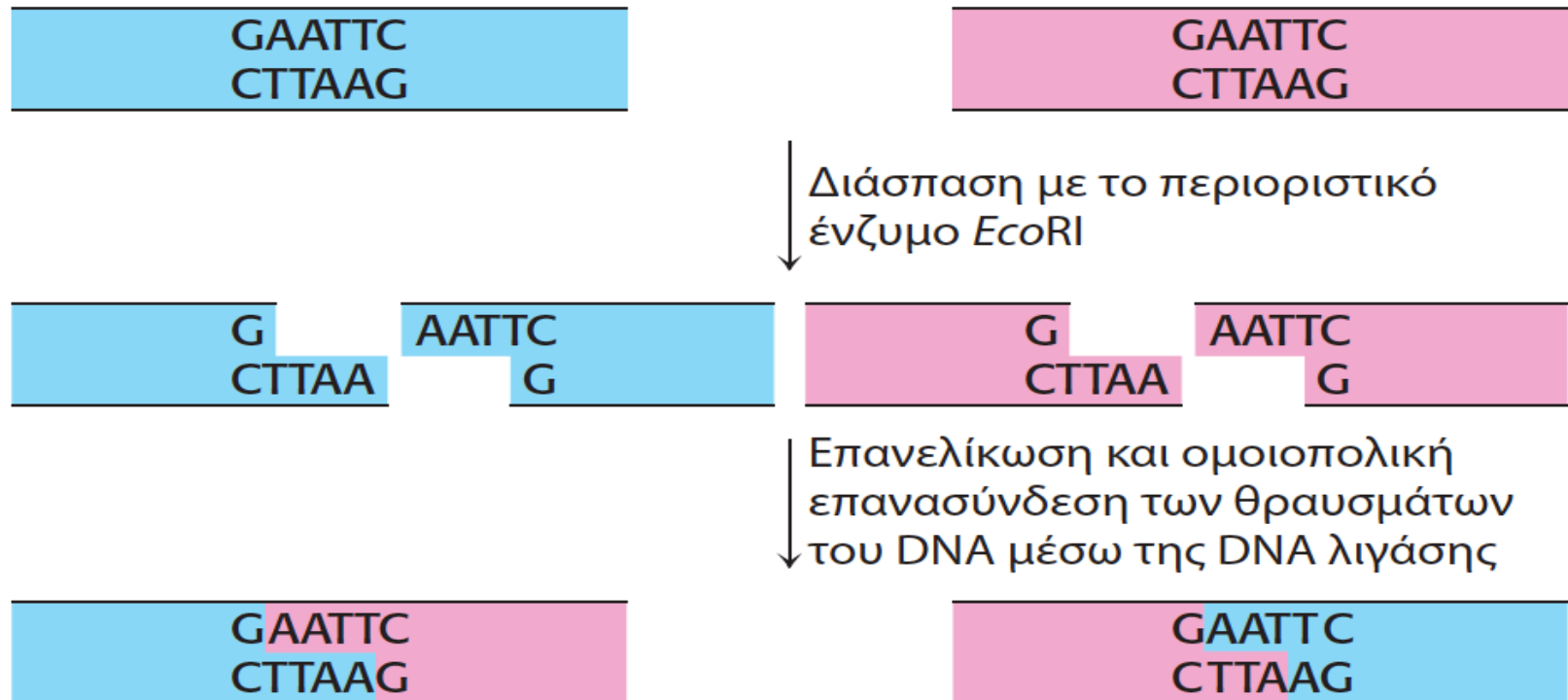


Διεργασίες όπως η ανάπτυξη μιας κάμπιας σε πεταλούδα περιλαμβάνουν εντυπωσιακές αλλαγές στα σχήματα γονιδιακής έκφρασης. Οι μικροσυστοιχίες DNA επιτρέπουν την παρακολούθηση των επιπέδων έκφρασης χιλιάδων γονιδίων συγχρόνως. Δεξιά, μια μικροσυστοιχία DNA αποκαλύπτει τα επίπεδα έκφρασης περισσότερων από 12.000 ανθρώπινων γονιδίων. Η ένταση του χρώματος κάθε κηλίδας δείχνει το επίπεδο έκφρασης του αντίστοιχου γονιδίου. [(Αριστερά) Cathy Keifer/istockphoto.com. (Δεξιά) Agilent Technologies.]

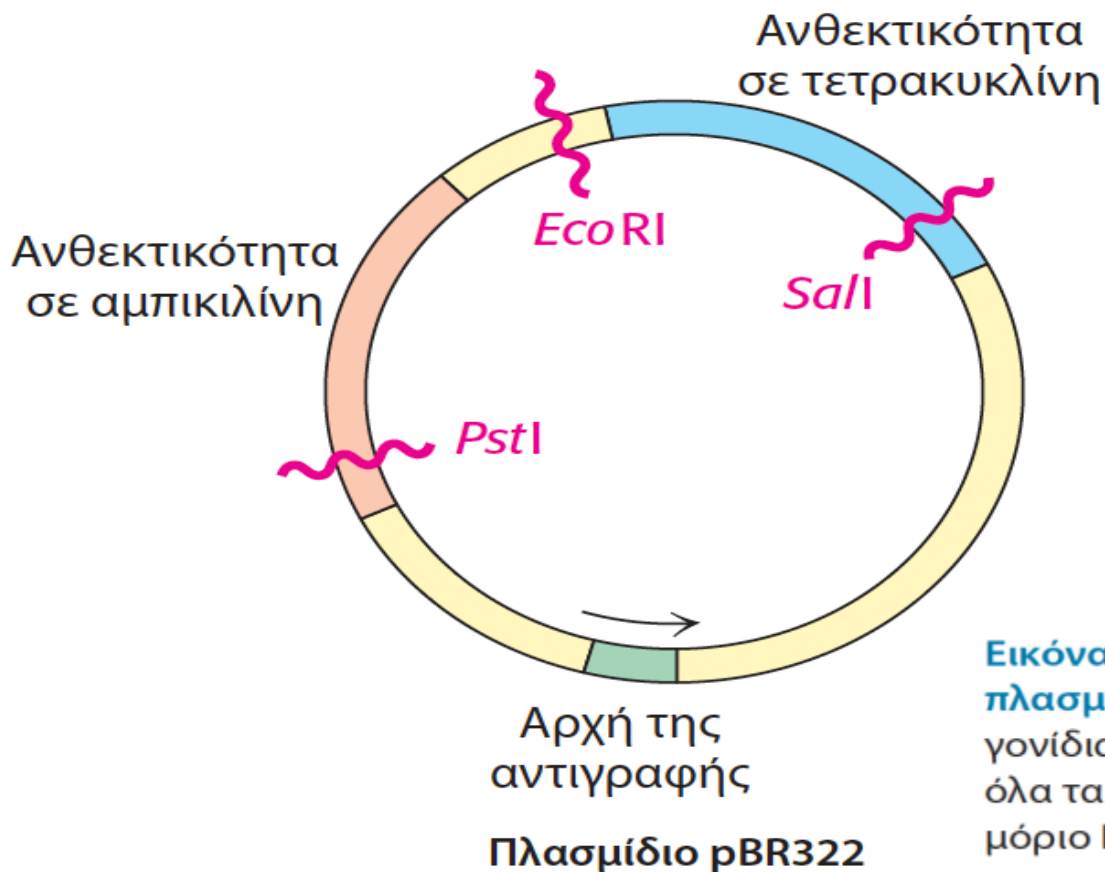




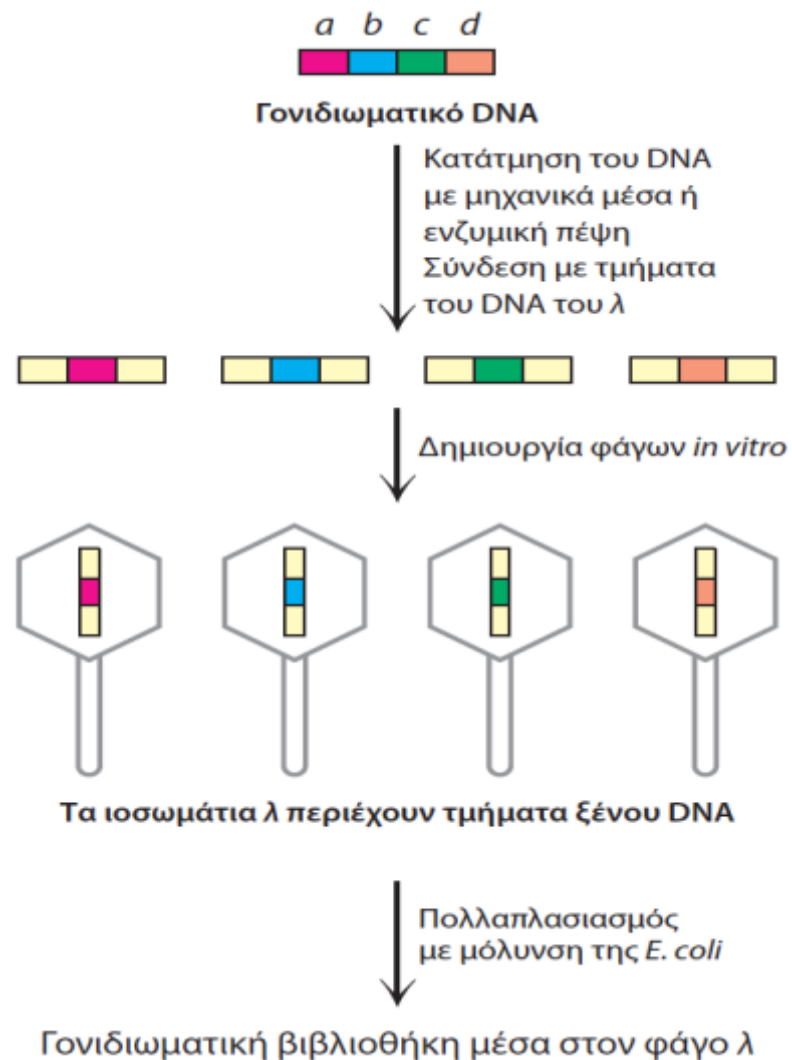
Εικόνα 5.1 Οι εξειδικεύσεις ορισμένων περιοριστικών ενδονουκλεασών. Οι αλληλουχίες βάσεων που αναγνωρίζονται από τα ένζυμα αυτά περιλαμβάνουν έναν άξονα συμμετρίας δευτέρας τάξεως. Οι δύο αλυσίδες στις περιοχές αυτές είναι ίδιες αν περιστραφούν κατά 180° περί τον άξονα που σημειώνεται με το πράσινο σύμβολο. Οι θέσεις τομής προσδιορίζονται με τα κόκκινα βέλη. Ο συμβολισμός του ονόματος του κάθε ενζύμου είναι δεξιά από την αλληλουχία που αναγνωρίζεται από αυτό. Σημειώνεται ότι οι τομές μπορεί να είναι είτε κλιμακωτές (*Bam* HI) είτε επίπεδες (*Hae* III).



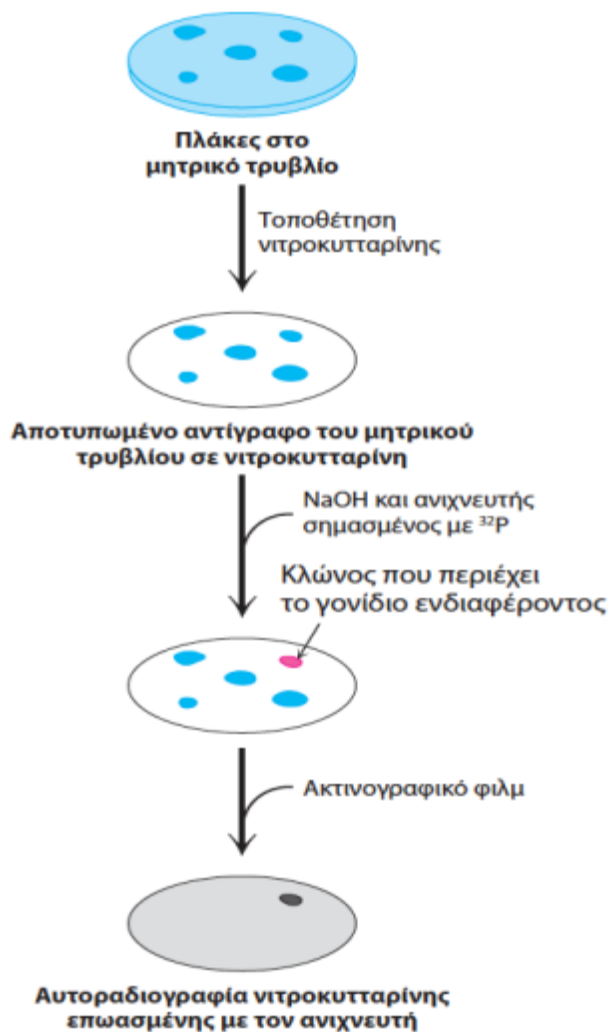
Εικόνα 5.10 Η σύνδεση μορίων DNA με τη μέθοδο των συνεκτικών άκρων. Δύο μόρια DNA, που τέμνονται με το ίδιο περιοριστικό ένζυμο, όπως το *EcoRI*, μπορούν να συνδεθούν με λιγάση και να δώσουν ανασυνδυασμένα μόρια.



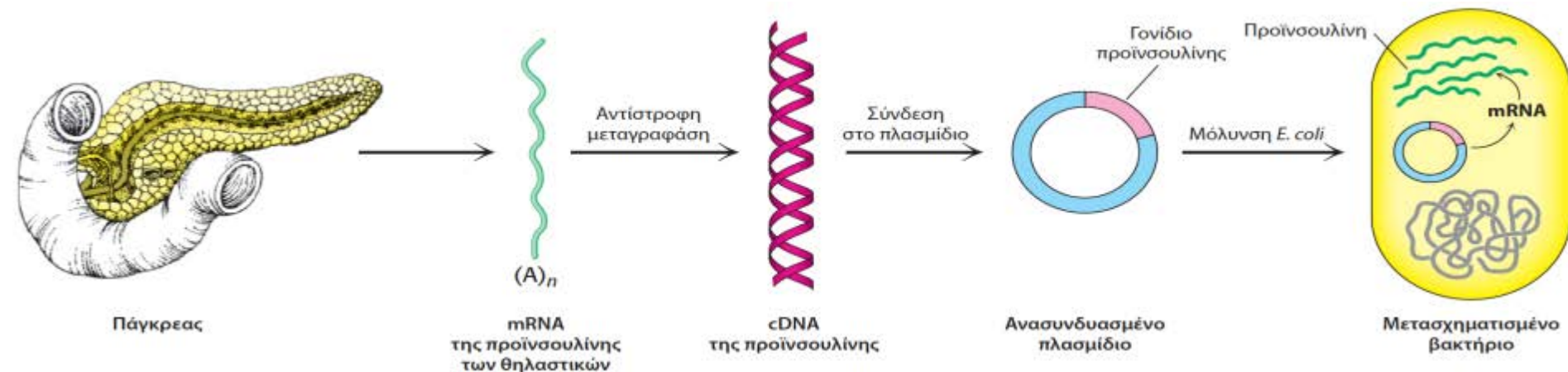
Εικόνα 5.12 Γενετικός χάρτης του πλασμιδίου pBR322. Το πλασμίδιο φέρει δύο γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά. Όπως όλα τα άλλα πλασμίδια, είναι ένα κυκλικό μόριο DNA με δομή διπλής έλικας.



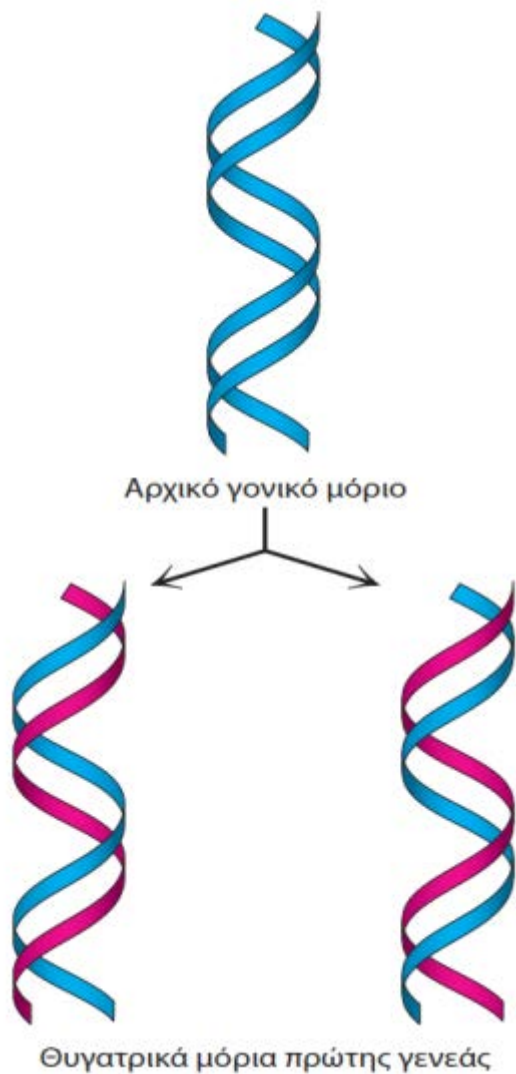
Εικόνα 5.18 Η δημιουργία μιας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης. Μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη μπορεί να δημιουργηθεί από το προϊόν της πέψης ενός ολόκληρου πολύπλοκου γονιδιώματος. Μετά από τεμαχισμό του γονιδιωματικού DNA σε επικαλυπτόμενα τεμάχια, το DNA εντίθεται στον φορέα παράγωγο του φάγου λ (που φαίνεται με κίτρινο χρώμα). Η συγκρότηση σε ιοσωμάτια και ο πολλαπλασιασμός τους μέσω μόλυνσης της *E. coli* οδηγεί στην κατασκευή μιας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης.



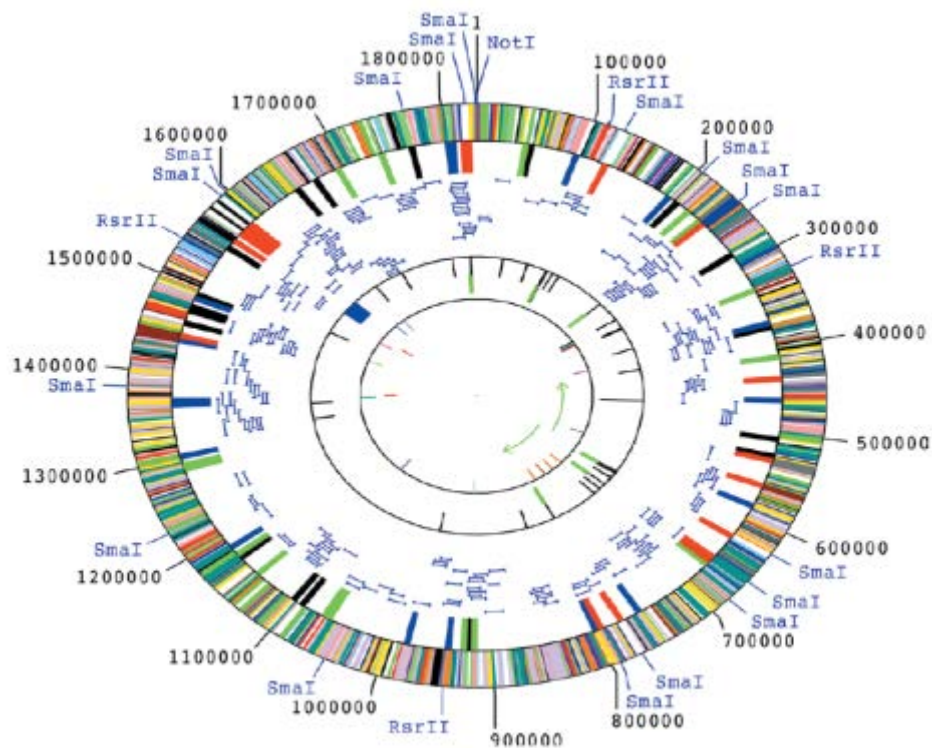
Εικόνα 5.19 Ο έλεγχος μιας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης προς εύρεση ενός συγκεκριμένου γονιδίου. Εδώ εξετάζεται ένα τρυβλίο για την ύπαρξη μιας λυτικής πλάκας που περιέχει το γονίδιο *a* της Εικόνας 5.18.



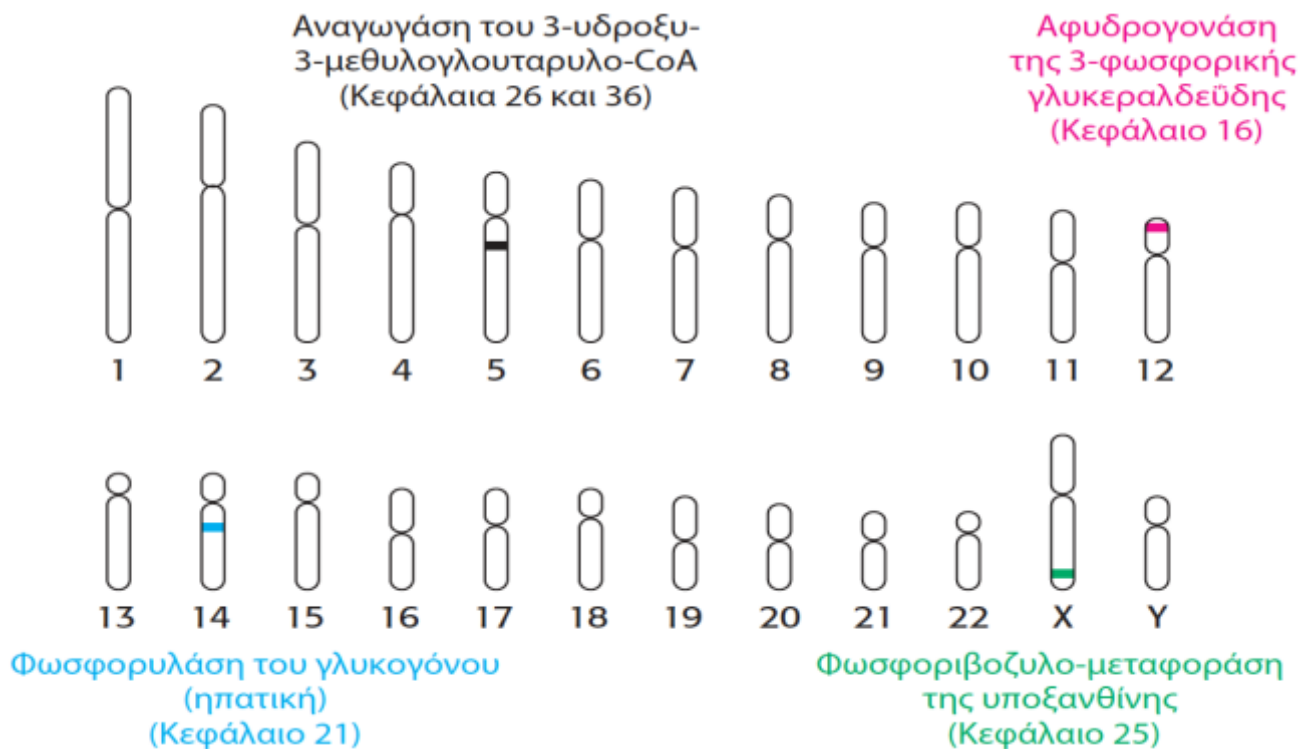
Εικόνα 5.22 Η σύνθεση προϊνσουλίνης σε βακτήρια. Η προϊνσουλίνη, ένα πρόδρομο μόριο της ινσουλίνης, μπορεί να συντεθεί από μετασχηματισμένους (γενετικά τροποποιημένους) κλώνους της *E. coli*. Οι κλώνοι περιέχουν το γονίδιο της προϊνσουλίνης θηλαστικών.



Εικόνα 28.1 Αντιγραφή του DNA. Κάθε κλώνος μιας διπλής έλικας (εμφανίζεται με μπλε χρώμα) λειτουργεί ως εκμαγείο για τη σύνθεση ενός νέου, συμπληρωματικού κλώνου (εμφανίζεται με κόκκινο χρώμα).



Εικόνα 5.25 Ένα πλήρες γονιδίωμα. Το διάγραμμα απεικονίζει το γονιδίωμα του *Haemophilus influenzae*, το πρώτο γονιδίωμα ελεύθερα διαβιούντος οργανισμού, του οποίου ταυτοποιήθηκε η αλληλουχία. Το γονιδίωμα κωδικεύει 1.700 πρωτεΐνες και 70 μόρια RNA. Η πιθανή λειτουργία των μισών περίπου πρωτεϊνών καθορίστηκε μέσω σύγκρισης με αλληλουχίες πρωτεϊνών, οι οποίες είχαν ήδη χαρακτηριστεί σε άλλα είδη. [Από R. D. Fleischmann et al., *Science* 269:496-512, 1995· η σάρωση, ευγενική προσφορά The Institute of Genomic Research.]

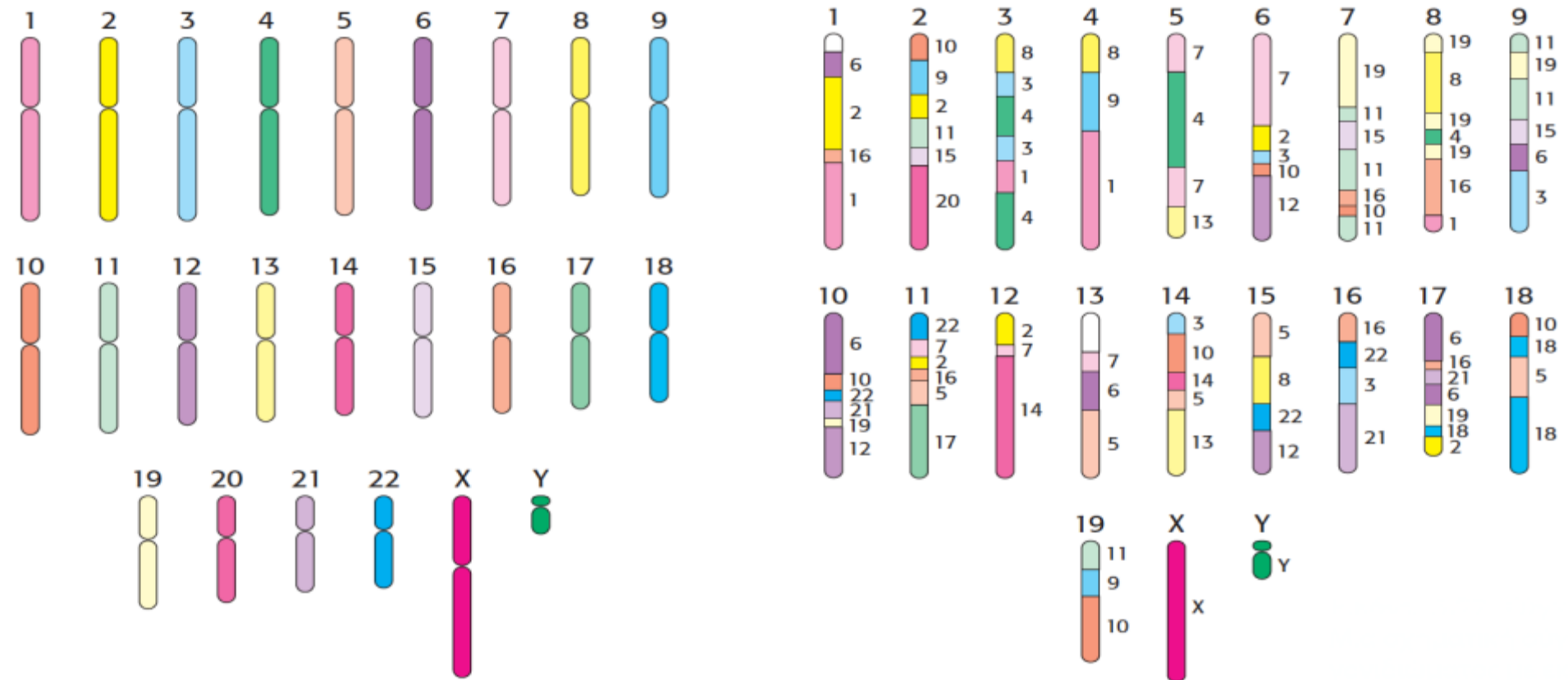


Εικόνα 5.26 Το ανθρώπινο γονιδίωμα. Το ανθρώπινο γονιδίωμα διατάσσεται σε 46 χρωμοσώματα – 22 ζεύγη αυτοσωμάτων και τα φυλετικά χρωμοσώματα X και Y. Έχουν τονιστεί έντονα οι θέσεις πολλών γονιδίων τα οποία συνδέονται με σημαντικές βιοχημικές πορείες.



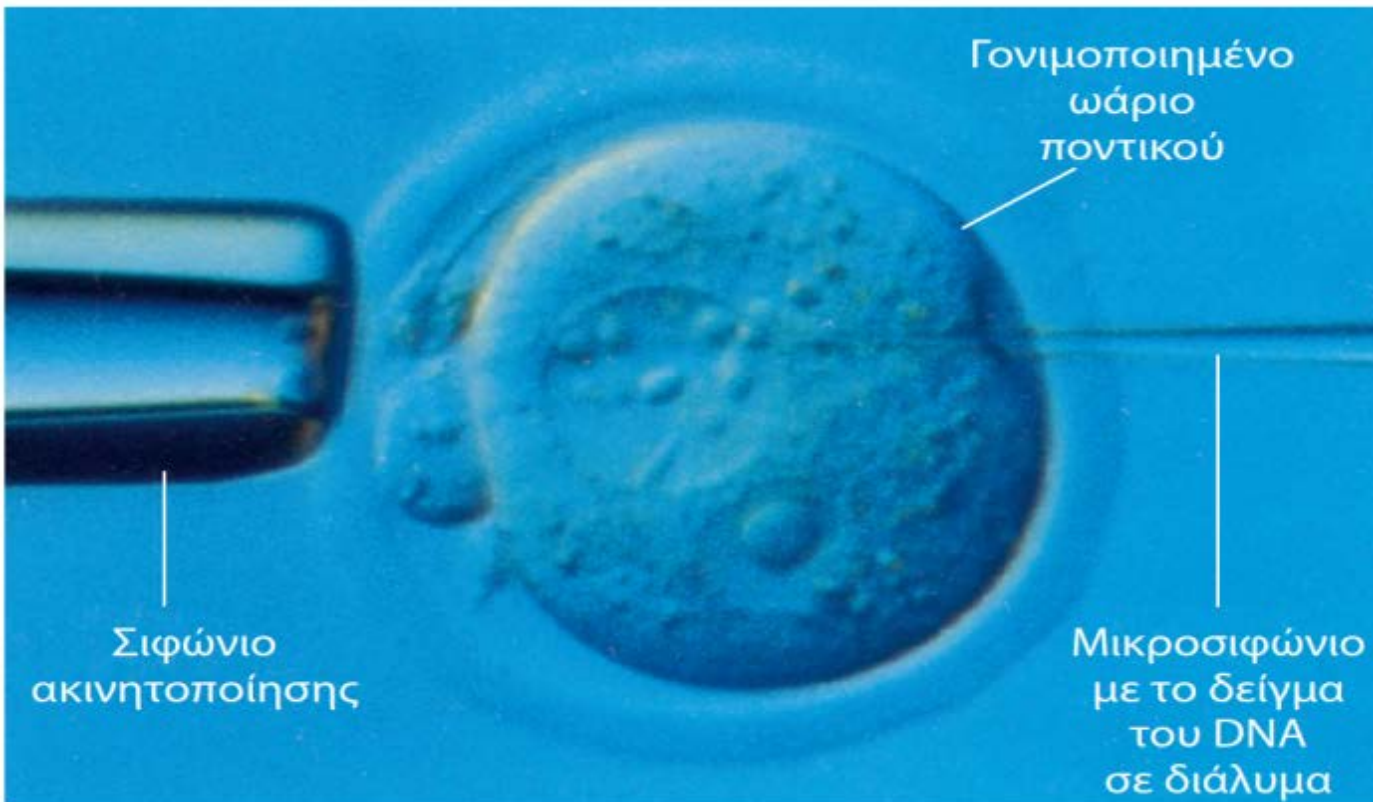
Χρωμοσώματα ανθρώπου

Χρωμοσώματα ποντικού

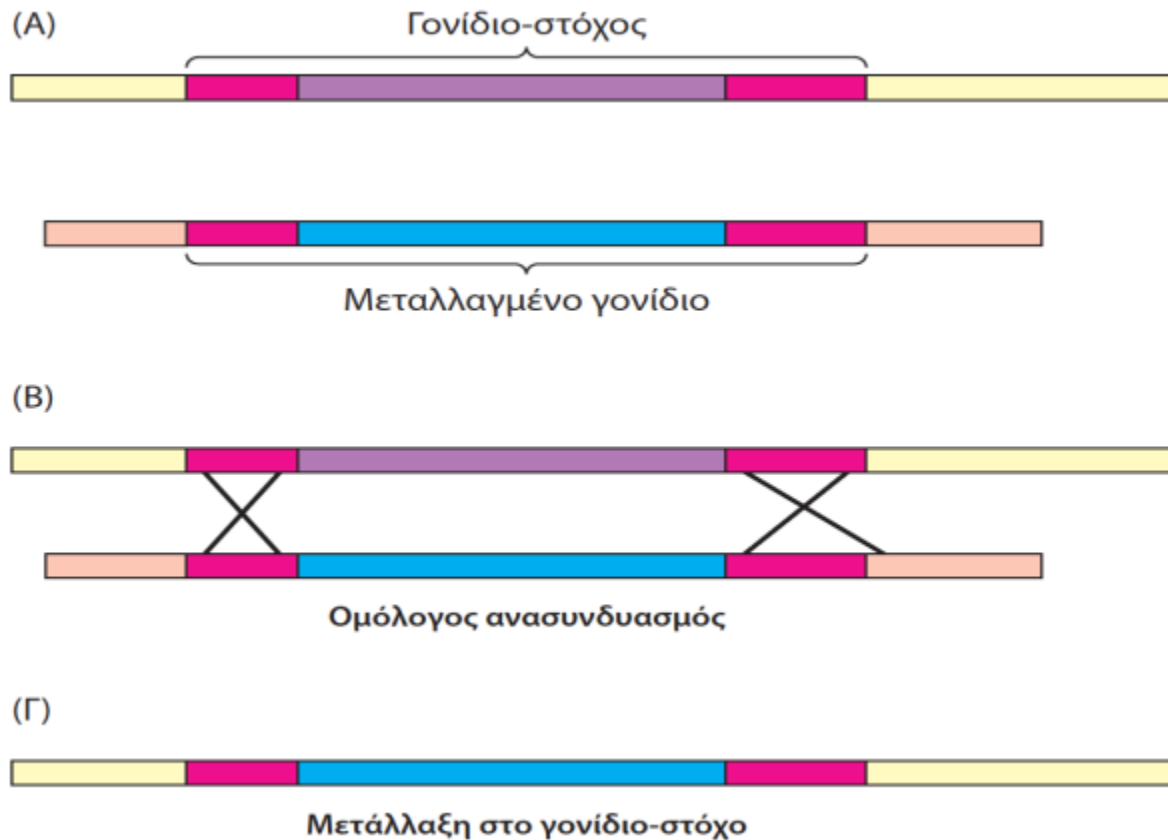


Εικόνα 5.27 Σύγκριση γονιδιωμάτων.

Μια σχηματική σύγκριση του ανθρώπινου γονιδιώματος με εκείνο του ποντικού δείχνει την ύπαρξη ανακατατάξεων μεγάλων χρωμοσωματικών τμημάτων.



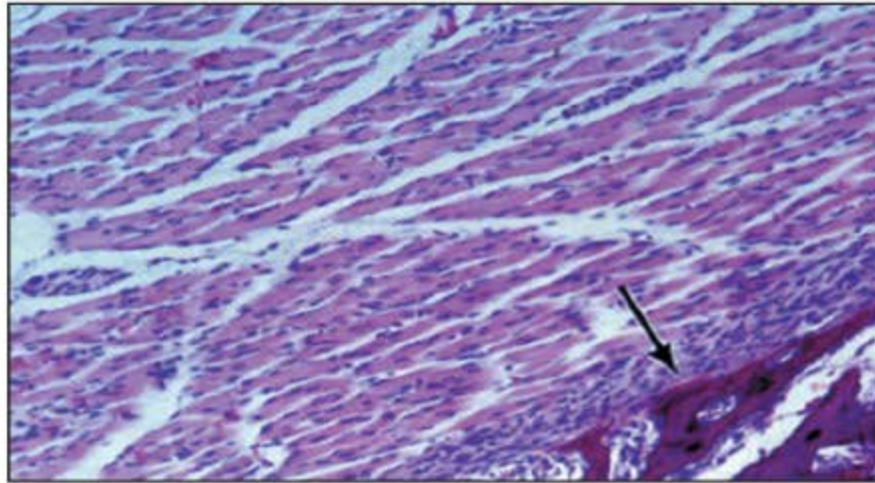
Εικόνα 5.31 Μικροένεση DNA. Μικροένεση ενός μορίου DNA κλωνοποιημένου σε πλασμίδιο στον αρσενικό προ-πυρήνα ενός γονιμοποιημένου ωαρίου ποντικού.



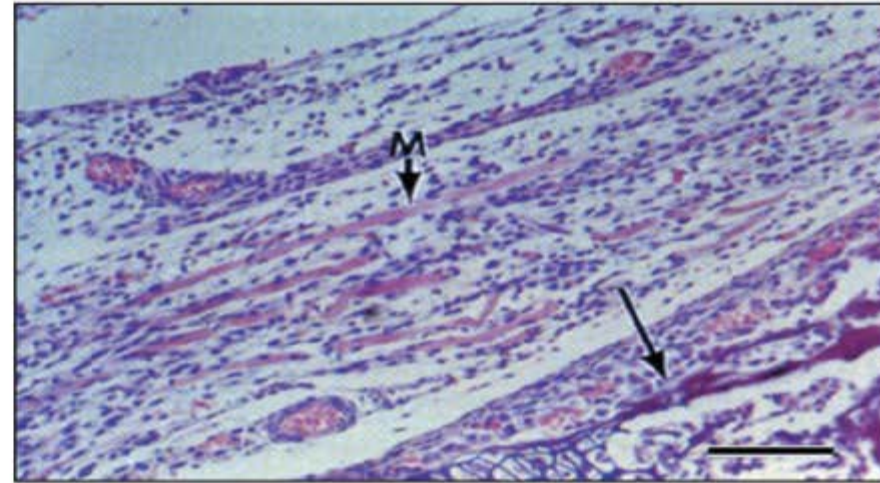
Εικόνα 5.33 Καταστροφή γονιδίου μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού. (Α) Κατασκευάζουμε μια μεταλλαγμένη μορφή του γονιδίου που θέλουμε να καταστρέψουμε διατηρώντας συγχρόνως ορισμένες περιοχές ομολογίας προς το φυσιολογικό γονίδιο (κόκκινο χρώμα). Όταν το ξένο μεταλλαγμένο γονίδιο εισάγεται σε ένα εμβρυϊκό βλαστικό κύτταρο, (Β) λαμβάνει χώρα ανασυνδυασμός σε περιοχές που παρουσιάζουν ομολογία και (Γ) το φυσιολογικό γονίδιο (γονίδιο-στόχος) αντικαθίσταται από το ξένο γονίδιο, το οποίο δεν είναι λειτουργικό. Το κύτταρο εισάγεται σε έμβρυα και παράγονται ποντικοί από τους οποίους απουσιάζει το αρχικό γονίδιο (ποντικοί με κατεστραμμένο γονίδιο).



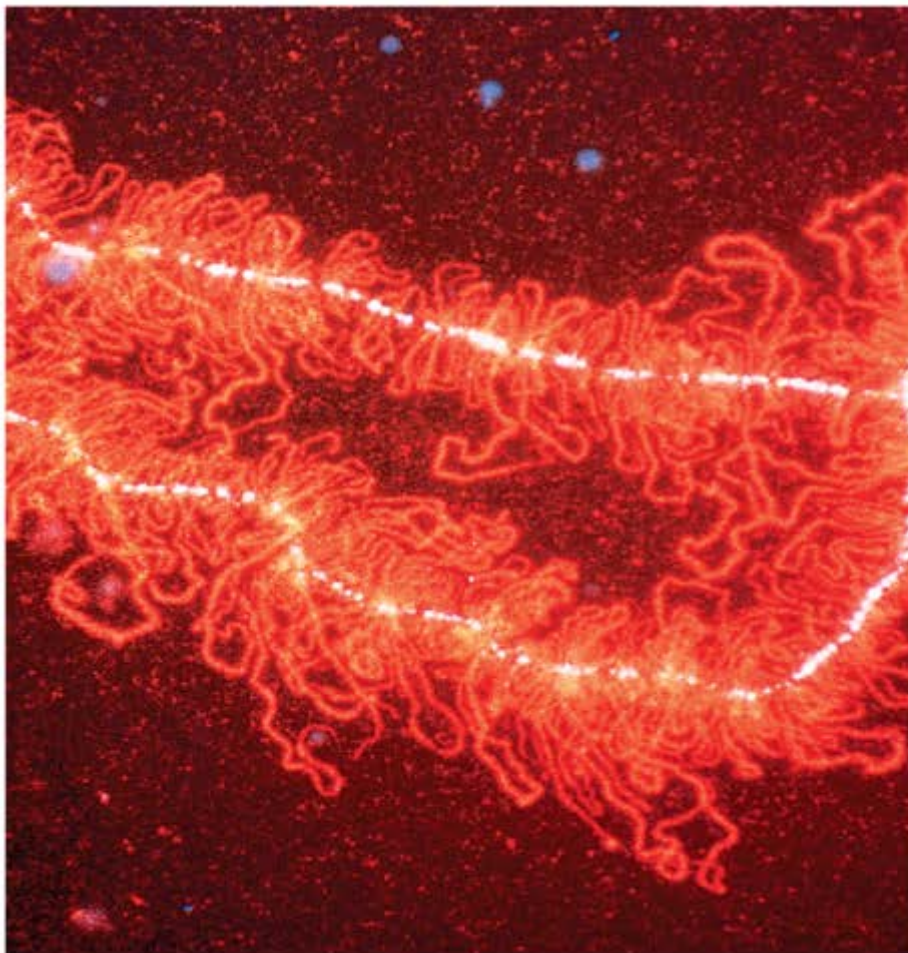
(A)



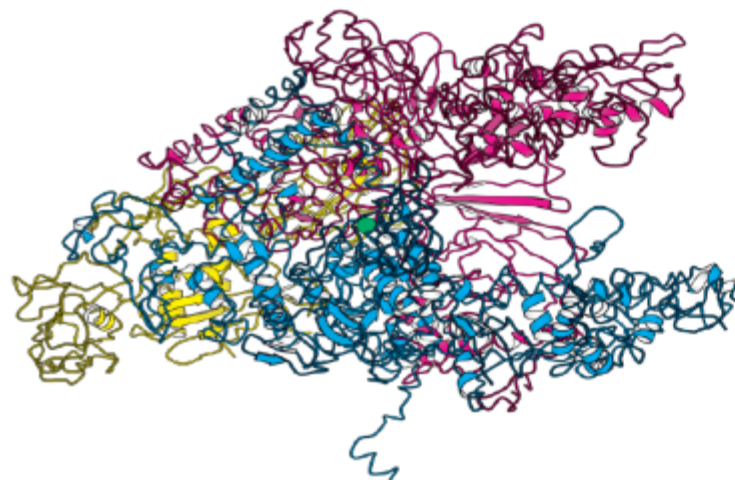
(B)



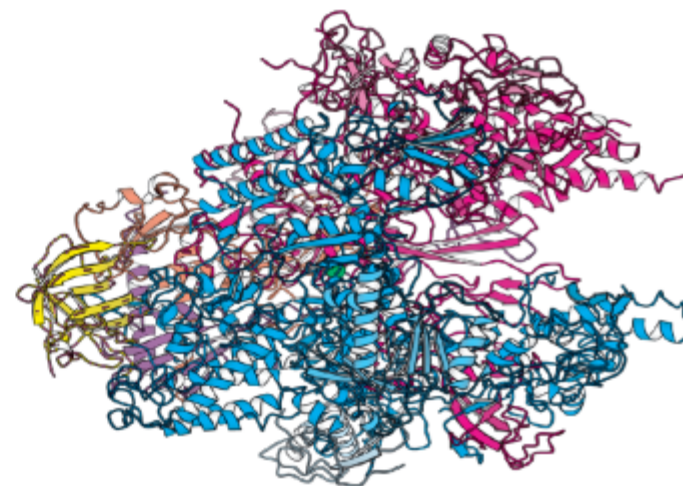
Εικόνα 5.34 Οι συνέπειες της καταστροφής γονιδίων. Τομές μυών από φυσιολογικούς ποντικούς (A) και από ποντικούς με κατεστραμμένο γονίδιο (B), όπως φαίνονται με το οπτικό μικροσκόπιο. Οι μύες δεν αναπτύσσονται φυσιολογικά στους ποντικούς στους οποίους έχουν καταστραφεί και τα δύο γονίδια της μυογενίνης. [Από P. Hasty, A. Bradley, J.H. Morris, D.G. Edmondson, J.M. Venuti, E.N. Olson and W.H. Klein, *Nature* 364:501-506, 1993.]




Η σύνθεση RNA είναι ένα καθοριστικό βήμα στην έκφραση των γενετικών πληροφοριών. Για τα ευκαρυωτικά κύτταρα, το αρχικό μεταγραφικό προϊόν RNA (το πρόδρομο μόριο του mRNA) συχνά συρράπτεται, αφαιρώντας τα εσώνια τα οποία δεν κωδικεύουν πρωτεϊνικές αλληλουχίες. Συχνά, το ίδιο προ-mRNA συρράπτεται διαφορετικά σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων ή σε διαφορετικά στάδια της ανάπτυξης. Στην εικόνα αριστερά, πρωτεΐνες που σχετίζονται με τη συρραφή του RNA (χρωσμένες με ένα φθορίζον αντίσωμα) τονίζουν περιοχές του γονιδιώματος αμφίβιου ζώου οι οποίες είναι μεταγραφικά ενεργοί. [(Αριστερά) Ευγενική προσφορά των Dr Mark B. Roth και Dr Joseph G. Gall.]

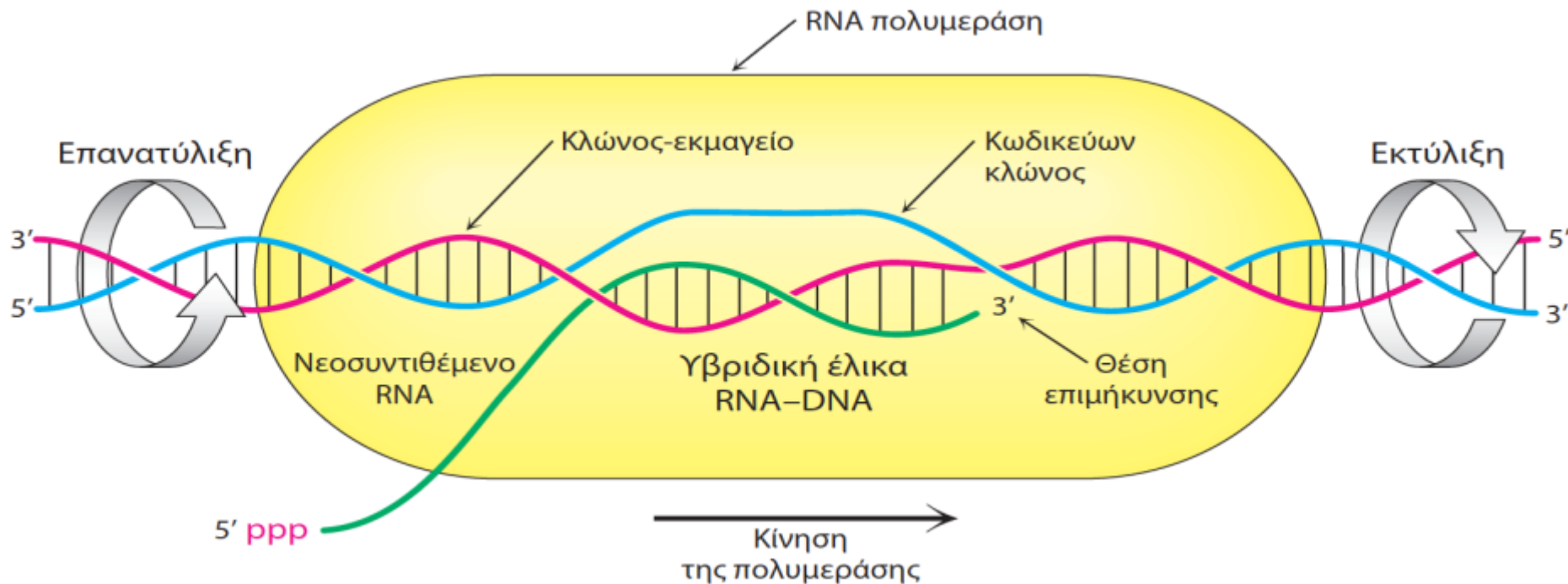


Προκαρυωτική RNA πολυμεράση

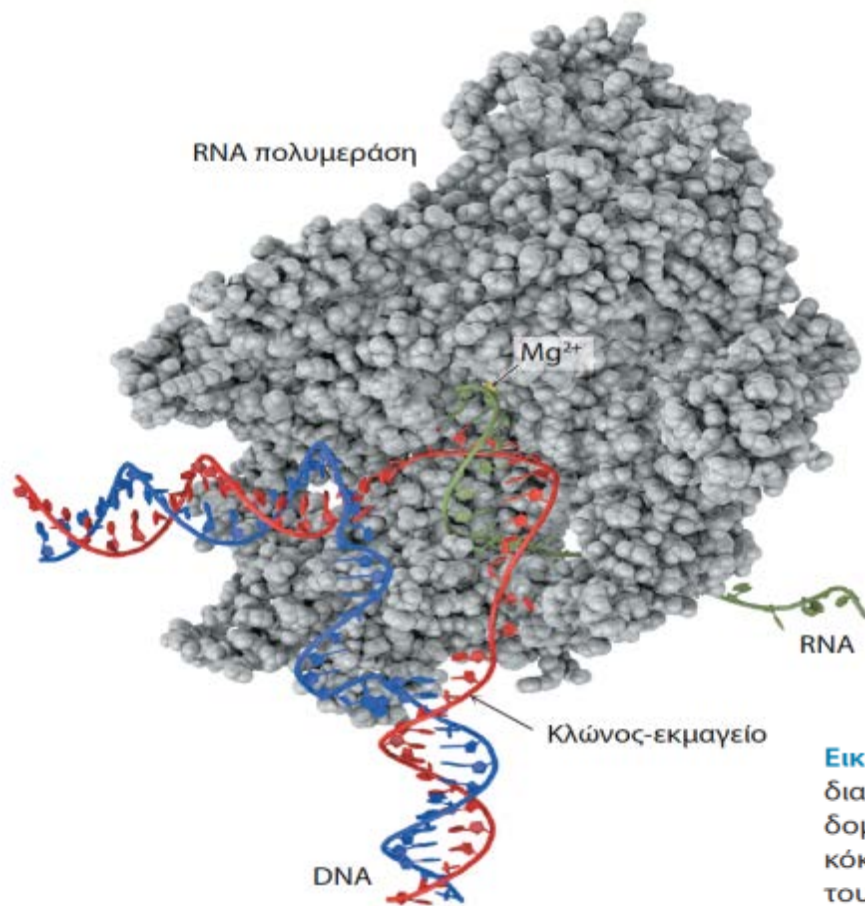


Ευκαρυωτική RNA πολυμεράση

 **Εικόνα 29.1 Δομές των RNA πολυμερασών.** Οι τριδιάστατες δομές των RNA πολυμερασών από έναν προκαρυώτη (*Thermus aquaticus*) και έναν ευκαρυώτη (*Saccharomyces cerevisiae*). Οι δύο μεγαλύτερες υπομονάδες για κάθε δομή φαίνονται με σκούρο κόκκινο και σκούρο μπλε. Σημειώστε ότι οι δύο δομές περιέχουν ένα κεντρικό μεταλλικό ιόν (πράσινο χρώμα) στα ενεργά τους κέντρα, κοντά σε μια μεγάλη σχισμή στα δεξιά. Η ομοιότητα των δομών αυτών αποκαλύπτει ότι τα συγκεκριμένα ένζυμα έχουν την ίδια εξελικτική προέλευση και πολλά κοινά μηχανιστικά χαρακτηριστικά. [Σχεδιασμένο από 116V.pdb και 116H.pdb.]



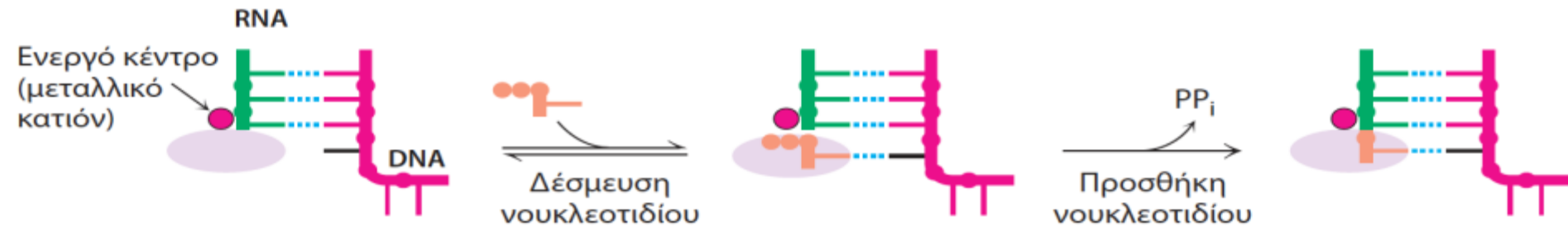
Εικόνα 29.13 Η φυσαλίδα μεταγραφής.
 Σχηματική αναπαράσταση μιας φυσαλίδας μεταγραφής κατά την επιμήκυνση ενός μεταγραφικού προϊόντος RNA. Το δίκλωνο DNA εκτυλίσσεται στο πρόσθιο άκρο της RNA πολυμεράσης και επανατυλίσσεται στο οπίσθιο άκρο. Το υβρίδιο RNA-DNA περιστρέφεται κατά την επιμήκυνση.



Εικόνα 29.3 Φυσαλίδα μεταγραφής. Η RNA πολυμεράση διαχωρίζει μια περιοχή της διπλής έλικας για τον σχηματισμό μιας δομής που ονομάζεται «φυσαλίδα μεταγραφής». Παρουσιάζονται ο κόκκινος κλώνος (κλώνος-εκμαγείο) και ο μπλε κλώνος (όχι εκμαγείο) του DNA, μαζί με το υπό σύνθεση μόριο RNA (παρουσιάζεται με πράσινο χρώμα). Σημειώνεται η θέση του μαγνησίου στο ενεργό κέντρο.

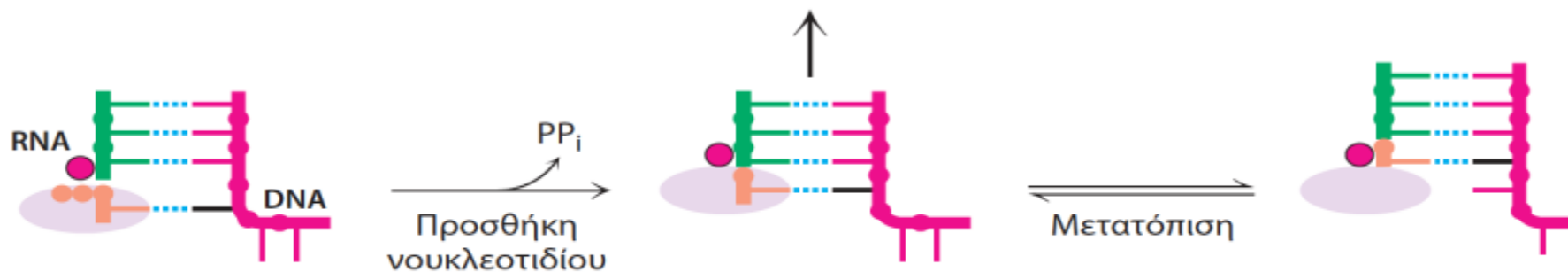


Εικόνα 29.4 Κλώνος-εκμαγείο και κωδικεύων κλώνος. Ο κλώνος-εκμαγείο ή αντινοσηματικός (-) έχει αλληλουχία συμπληρωματική με εκείνη του μεταγραφικού προϊόντος RNA.

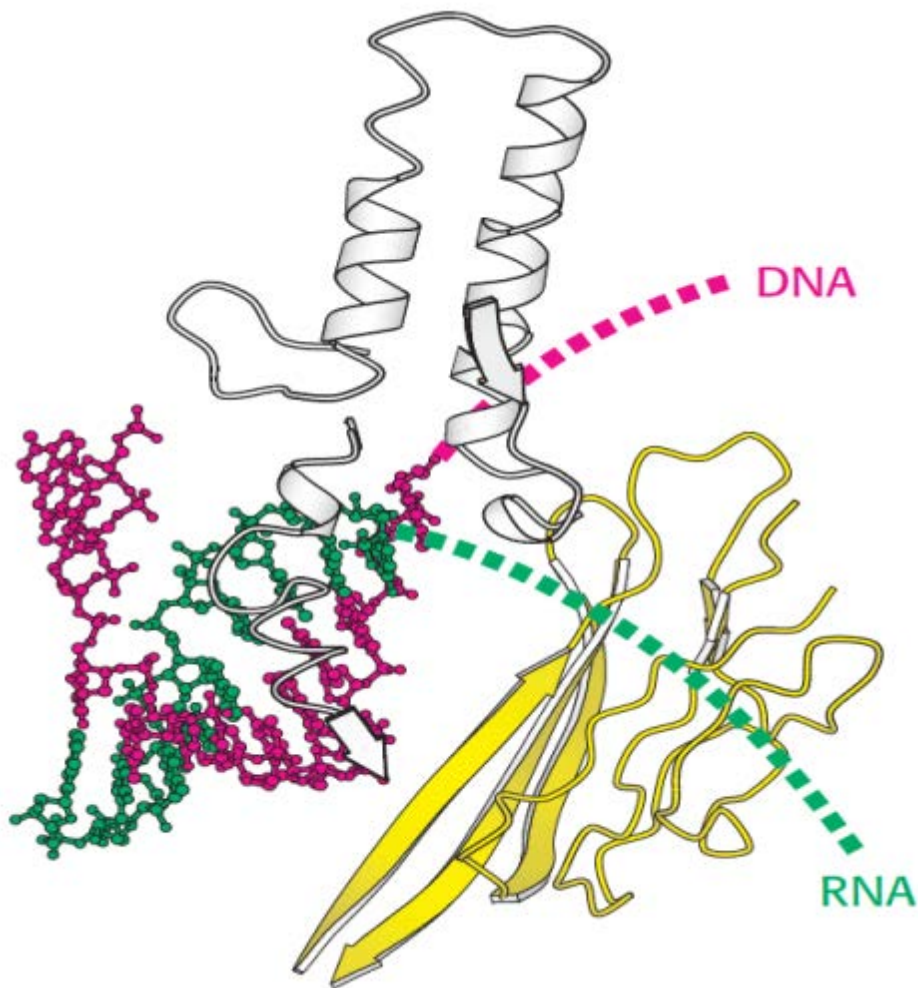


Εικόνα 29.5 Μηχανισμός επιμήκυνσης.

Ένας τριφωσφορικός ριβονουκλεοζίτης δεσμεύεται δίπλα στην αυξανόμενη αλυσίδα RNA και σχηματίζει ένα ζεύγος βάσεων κατά Watson-Crick με μια βάση του κλώνου-εκμαγείου του DNA. Η υδροξυλική ομάδα 3' του άκρου της αλυσίδας RNA προσβάλλει το νουκλεοτίδιο που μόλις δεσμεύθηκε και σχηματίζει έναν νέο φωσφοδιεστερικό δεσμό, απελευθερώνοντας πυροφωσφορικό.



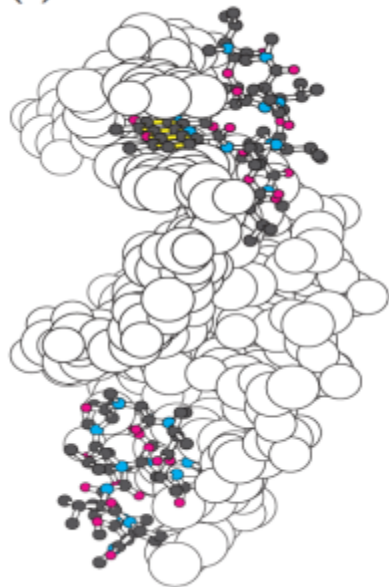
Εικόνα 29.6 Μετατόπιση. Μετά την προσθήκη του νουκλεοτιδίου, το υβρίδιο RNA-DNA μπορεί να μετατοπιστεί διά μέσου της RNA πολυμεράσης, φέρνοντας μια νέα βάση του DNA σε κατάλληλη θέση ώστε να σχηματίσει ζεύγος βάσεων με έναν εισερχόμενο τριφωσφορικό ριβονουκλεοζίτη.



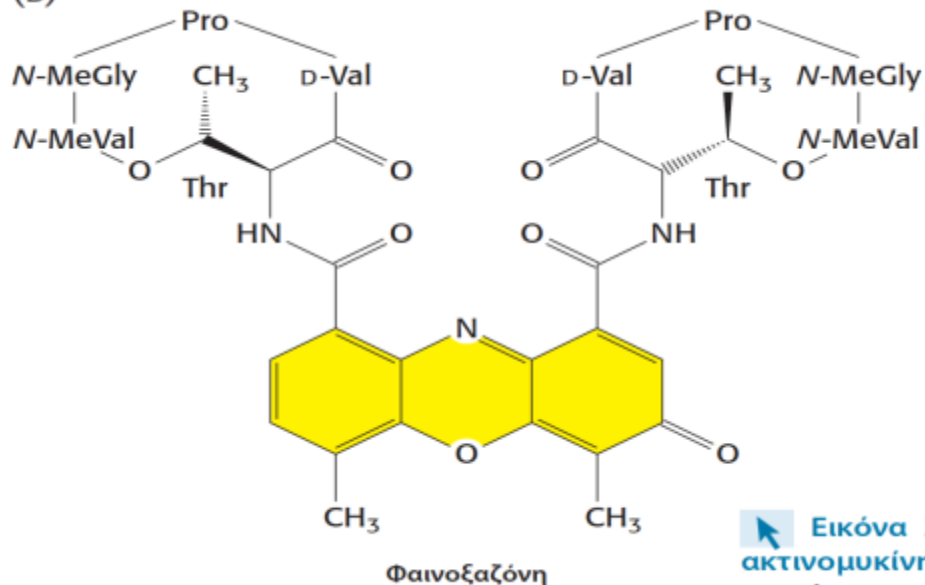
Εικόνα 29.7 Ο διαχωρισμός του υβριδίου RNA-DNA. Μια δομή στο εσωτερικό της RNA πολυμεράσης επιβάλλει τον διαχωρισμό του υβριδίου RNA-DNA. Παρατηρήστε ότι ο κλώνος του DNA εξέρχεται προς μία κατεύθυνση και το προϊόν RNA προς άλλη. [Σχεδιασμένο από 116H.pdb.]



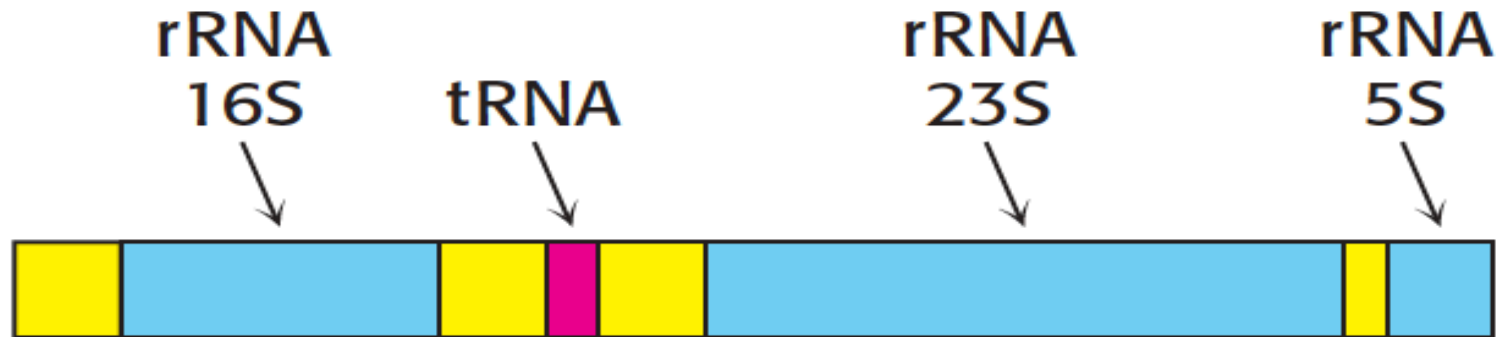
(A)



(B)



Εικόνα 29.19 Η δομή του συμπλόκου ακτινομυκίνης-DNA. (A) Η δομή του συμπλόκου ενός δίκλωνου μορίου DNA (απεικονίζεται ως χωροπληρωτικό μοντέλο) και της ακτινομυκίνης D (απεικονίζεται ως μοντέλο με σφαίρες και ράβδους). Στο σύμπλοκο βρίσκονται δεσμευμένα δύο μόρια ακτινομυκίνης D. (B) Η δομή της ακτινομυκίνης D, στην οποία παρουσιάζεται και ο φαινοξαζονικός δακτύλιος. Παρατηρήστε ότι η φαινοξαζόνη (με κίτρινο χρώμα) ολισθαίνει μεταξύ ζευγών βάσεων του DNA. Σύντομογραφία: Me, μεθυλική ομάδα. [Σχεδιασμένο από 113W.pdb].



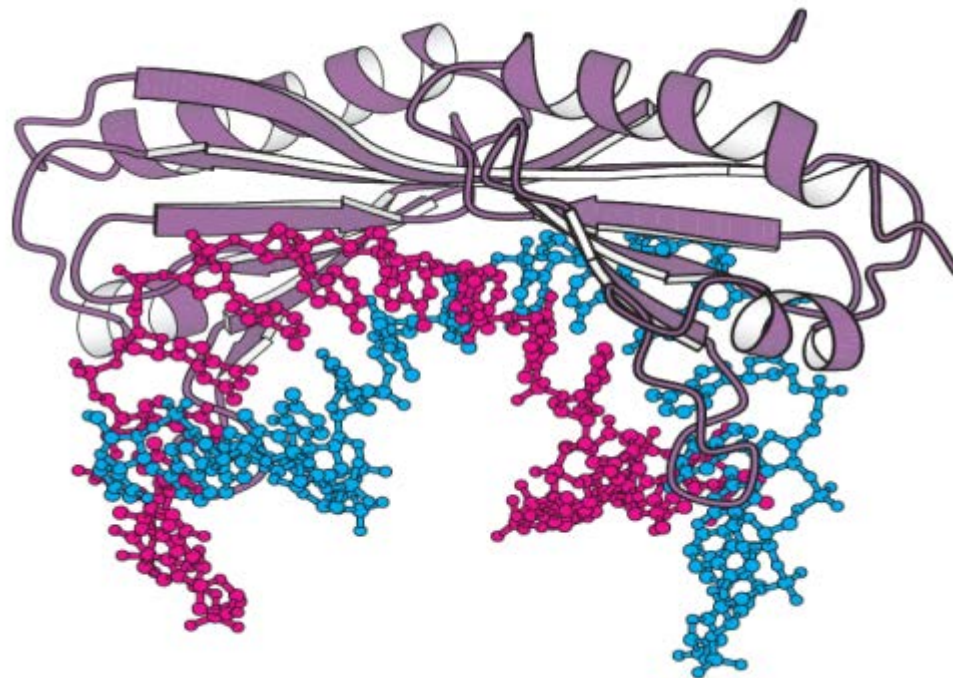
Εικόνα 29.20 Πρωτογενές μεταγραφικό προϊόν. Ησχάση αυτού του μεταγραφικού προϊόντος παράγει μόρια rRNA μεγέθους 5S, 16S και 23S και ένα μόριο tRNA. Οι ενδιάμεσες αλληλουχίες παρουσιάζονται με κίτρινο χρώμα.




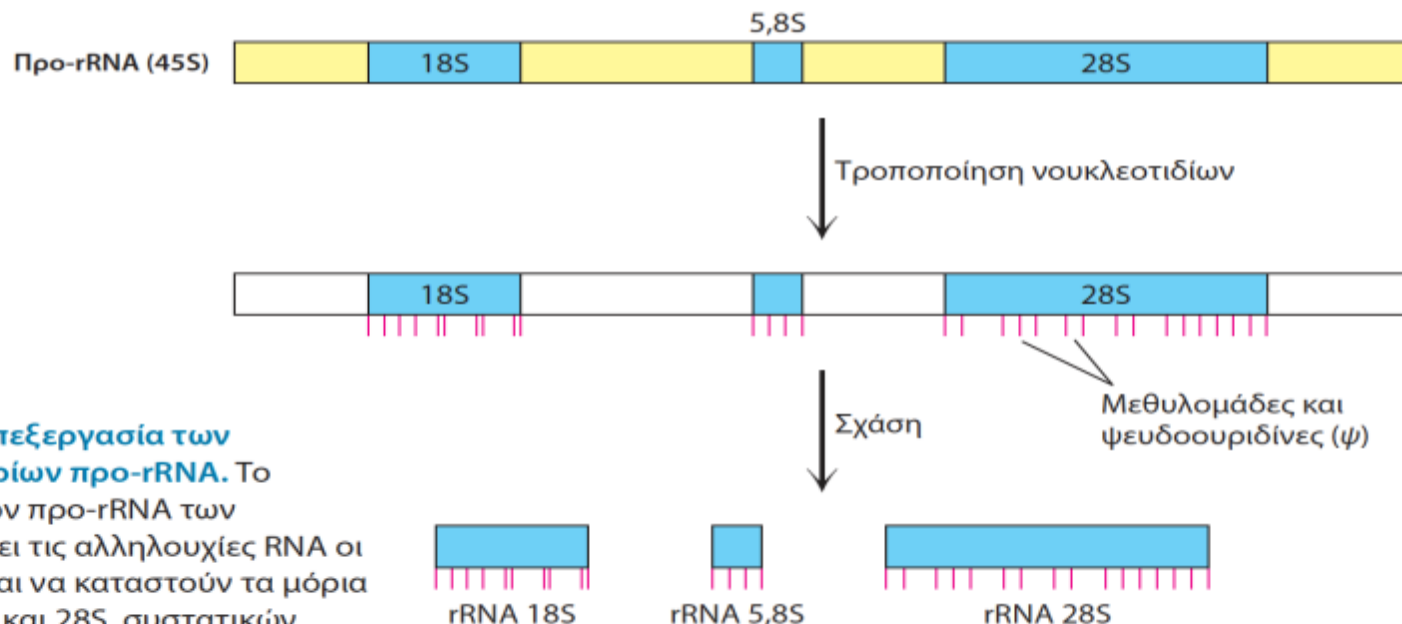
5' T₈₂ A₉₇ T₉₃ A₈₅ A₆₃ A₈₈ A₅₀ 3'

Πλαίσιο TATA

Εικόνα 29.23 Το πλαίσιο TATA. Συγκρίσεις των αλληλουχιών τουλάχιστον 100 ευκαρυωτικών προαγωγέων οδήγησαν στην ομόφωνη αλληλουχία που βλέπουμε. Οι δείκτες σημειώνουν τη συχνότητα (%) της βάσης κάθε θέσης.

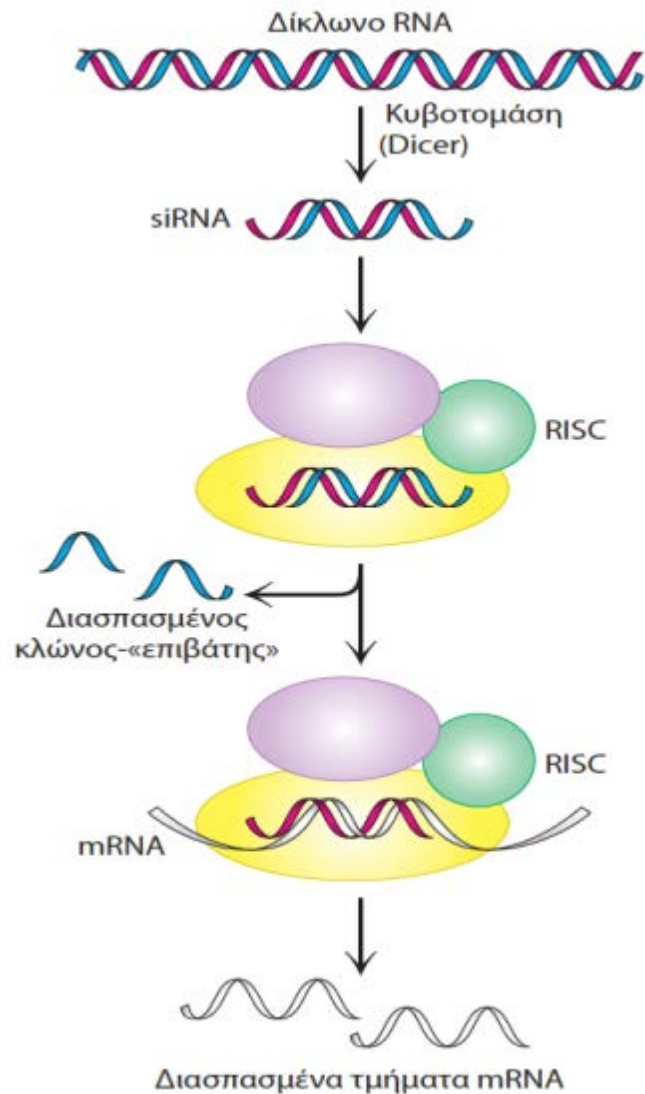


 **Εικόνα 29.26** Το σύμπλοκο που σχηματίζεται από την πρωτεΐνη δέσμευσης του πλαισίου TATA και το DNA. Η δομή της πρωτεΐνης, που μοιάζει με σέλα, επικάθεται σε ένα τμήμα DNA. Σημειώστε ότι το DNA είναι σημαντικά εκτυλιγμένο και κυρτωμένο.

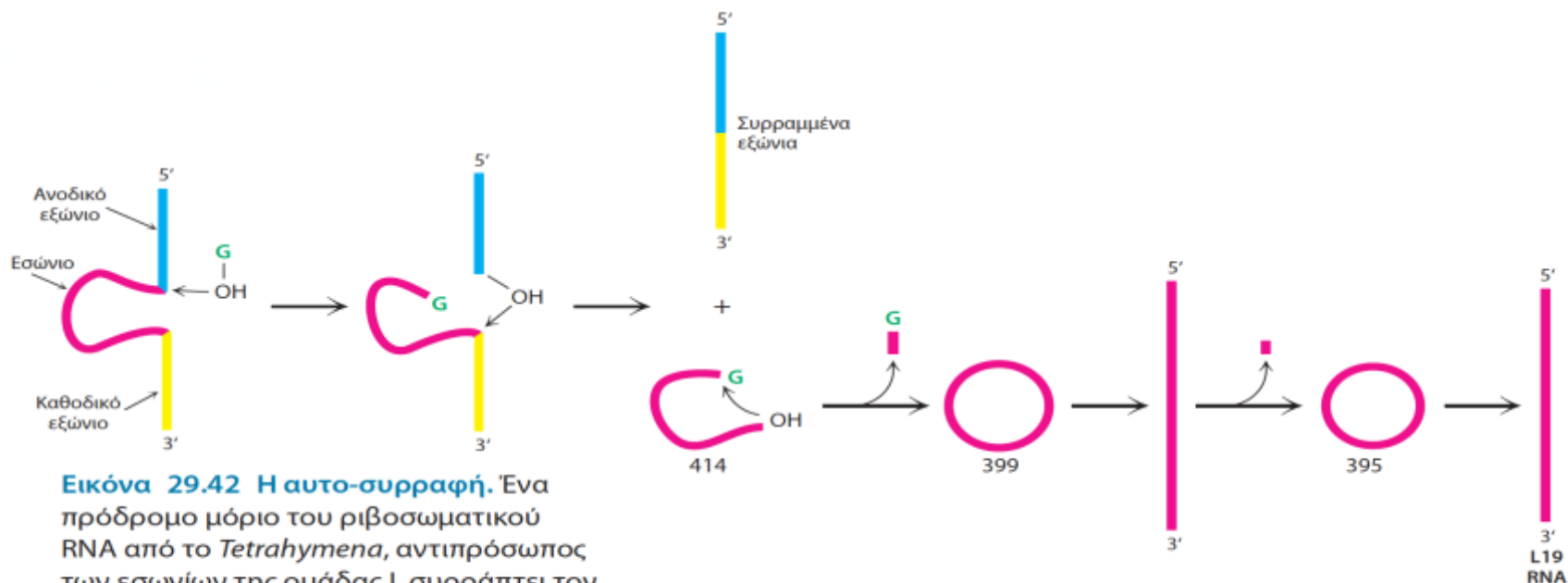


Εικόνα 29.27 Η επεξεργασία των ευκαρυωτικών μορίων προ-rRNA.

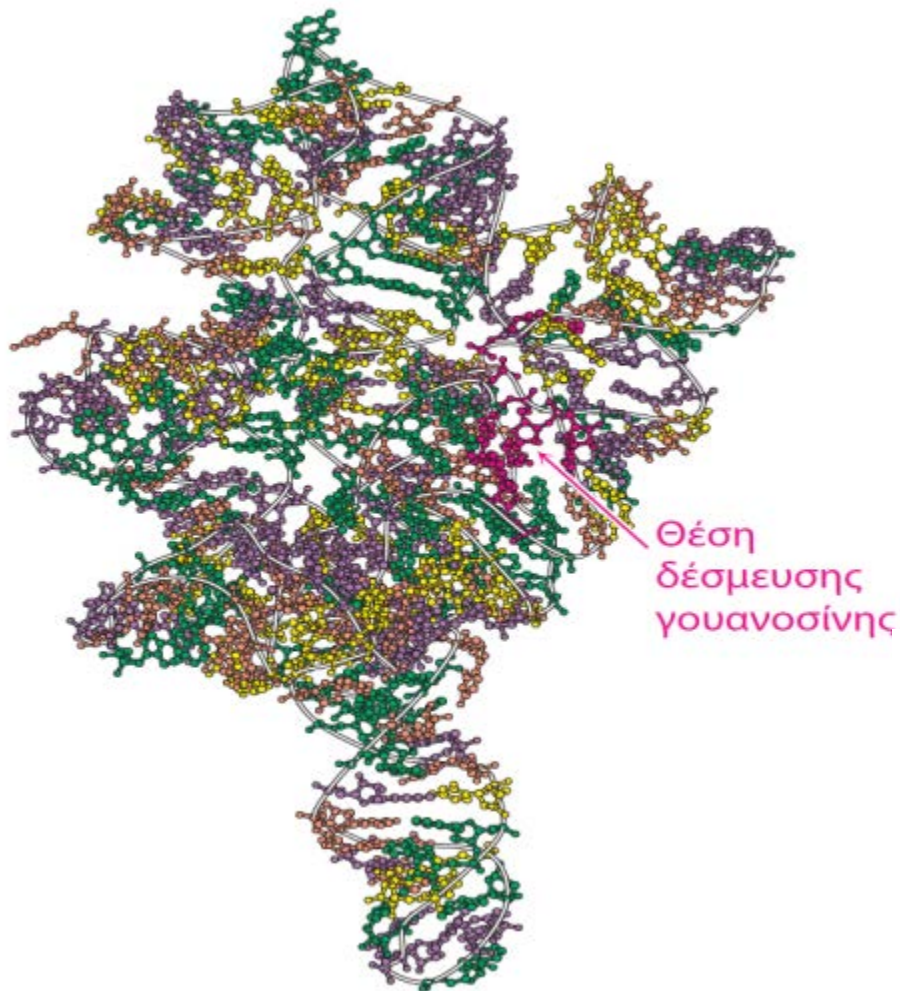
Το μεταγραφικό προϊόν προ-rRNA των θηλαστικών περιέχει τις αλληλουχίες RNA οι οποίες προορίζονται να καταστούν τα μέρη των rRNA 18S, 5,8S και 28S, συστατικών των μικρών και μεγάλων ριβοσωματικών υπομονάδων. Αρχικά, τροποποιούνται νουκλεοτίδια: μικρές πυρηνισκικές ριβονουκλεοπρωτεΐνες μεθυλιώνουν ειδικές ομάδες ριβόζης και μετατρέπουν επιλεγμένες ουριδίνες σε ψευδοουριδίνες (φαίνονται με κόκκινες γραμμές). Ακολούθως, το μόριο προ-rRNA υφίσταται σχάση και συσκευάζεται με μια άκρως ελεγχόμενη διεργασία στην οποία συμμετέχουν άνω των 200 πρωτεϊνών, ώστε να σχηματιστούν ώριμες ριβοσωματικές υπομονάδες.



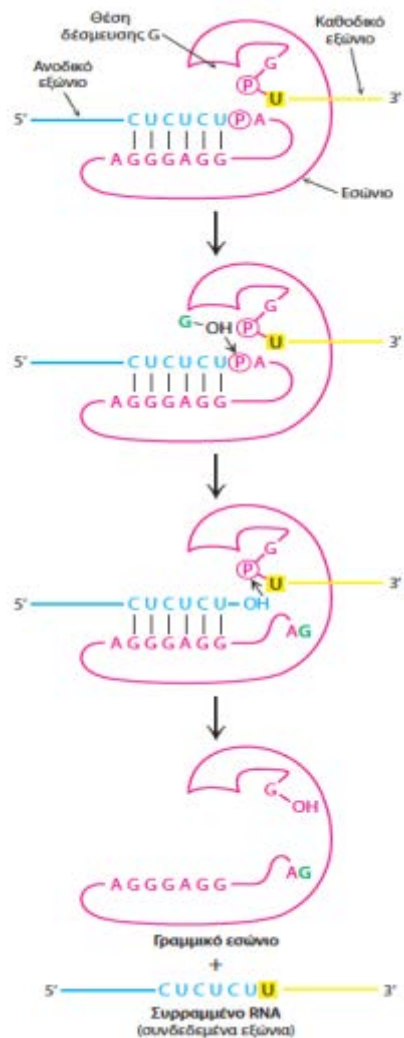
Εικόνα 5.35 Ο μηχανισμός παρεμβολής από το RNA. Ένα δίκλωνο μόριο RNA τέμνεται από το ένζυμο *κυβοτομάση* σε θραύσματα μήκους 21 bp για την παραγωγή μορίων siRNA. Αυτά τα μόρια ενσωματώνονται στο επαγόμενο από το RNA σύμπλοκο κατασίγασης (RISC), όπου τα μονόκλινα μόρια RNA οδηγούν στην τομή εκείνων των μορίων mRNA τα οποία περιέχουν συμπληρωματικές αλληλουχίες προς αυτά.



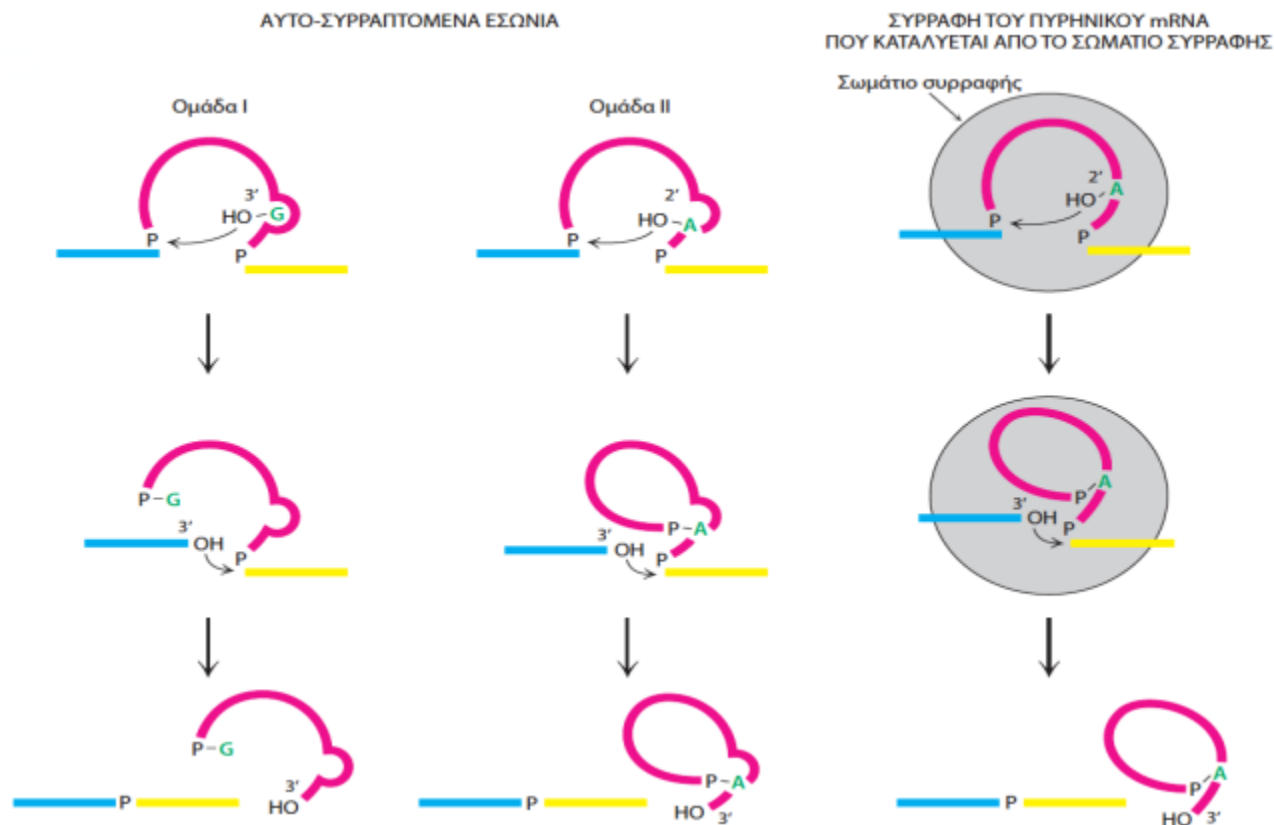
Εικόνα 29.42 Η αυτο-συρραφή. Ένα πρόδρομο μόριο του ριβοσωματικού RNA από το *Tetrahymena*, αντιπρόσωπος των εσώνιων της ομάδας I, συρράπτει τον εαυτό του παρουσία ενός συμπαραγόντα γουανοσίνης (G, φαίνεται με πράσινο χρώμα). Με μια πρώτη αντίδραση συρραφής απελευθερώνεται ένα εσώνιο μήκους 414 νουκλεοτιδίων (κόκκινο). Ακολούθως, το εσώνιο αυτό συρράπτει και πάλι δύο φορές τον εαυτό του, παράγοντας ένα γραμμικό μόριο RNA, το οποίο έχει απωλέσει συνολικά 19 νουκλεοτίδια. Αυτό το μόριο RNA L19 είναι καταλυτικά ενεργό. [Κατά T. Cech, RNA as an enzyme. © 1986 by Scientific American, Inc. All rights reserved.]



Εικόνα 29.43 Η δομή ενός αυτο-συρραπτόμενου εσωνίου. Η δομή ενός μεγάλου τμήματος του αυτο-συρραπτόμενου εσωνίου του πρωτόζωου *Tetrahymena* αποκαλύπτει ένα σχήμα περίπλοκης αναδίπλωσης ελίκων και βρόχων. Οι βάσεις παρουσιάζονται με πράσινο χρώμα η A, κίτρινο η C, πορφυρό η G και πορτοκαλί η U. [Σχεδιασμένο από 1grz.pdb].



Εικόνα 29.44 Ο μηχανισμός αυτο-συρραφής. Ο καταλυτικός μηχανισμός του αυτο-συρραπτόμενου εσωνίου της ομάδας I περιλαμβάνει μια σειρά αντιδράσεων τρανσεστεροποίησης. [Κατά T. Cech, *RNA as an enzyme*. © 1986 by Scientific American, Inc. All rights reserved.]



Εικόνα 29.45 Σύγκριση πορειών συρραφής. Τα εξώνια που συνδέονται παρουσιάζονται με μπλε και κίτρινο χρώμα, ενώ η προσβάλλουσα μονάδα με πράσινο. Κατά τη συρραφή της ομάδας I και της ομάδας II, η καταλυτική θέση σχηματίζεται από το ίδιο το εσώνιο (κόκκινο). Αντιθέτως, η συρραφή των πυρηνικών πρόδρομων μορίων του mRNA καταλύεται από snRNA και τις σχετιζόμενες με αυτά πρωτεΐνες στο σωμάτιο συρραφής. [Κατά P. A. Sharp. *Science* 235:769-771, 1987.]



Βιβλιογραφία

1. Jeremy M Berg, John L Tymoczko, Lubert Stryer, ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ, 5^η έκδοση, Α τόμος, Παν/κές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, 2004. Βλέπε και διαδικτυακό τόπο του βιβλίου www.whfreeman.com/Berg7e/
2. Διαμαντίδη Γρ., ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ, 3^η έκδοση, University Studio Press, Θεσσαλονίκη, 2007/2010.
3. Campbell NA, Reece JB. *Βιολογία*, τόμος Ι. 8^η έκδοση, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, 2010.
4. Γ. Μουρκίδη, Γεωργική Χημεία, Θεσσαλονίκη, 1971. Υπάρχει στη Βιβλιοθήκη του ιδρύματος.
5. Geoffrey [Zubay](#), William [Parson](#), Diane E. [Vance](#). Αρχές βιοχημείας, [ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης](#), Αθήνα 1999. Υπάρχει στη Βιβλιοθήκη του ιδρύματος.
6. David L. [Nelson](#), Michael M. [Cox](#). *Lehninger*, Principles of Biochemistry (υπάρχει και μεταφρασμένη ελληνική έκδοση) Βασικές αρχές βιοχημείας. Μεταφραστές: Κ.Ε. [Σταματόπουλος](#), Α.Ν. [Χατζηδημητρίου](#). Επιμελητής: Α.Γ. [Παπαβασιλείου](#). [ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης](#), Αθήνα, 2007. Υπάρχει στη Βιβλιοθήκη του ιδρύματος.
7. Mathews D, van Holde KE. BIOCHEMISTRY, 3rd edition, Benjamin Cummings, Menlo Park, 2003. Υπάρχει στη Βιβλιοθήκη του ιδρύματος.
8. John Clark, Robert ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ. Παν/κές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, 1992, 2^η εκτύπωση, 2001. Υπάρχει στη Βιβλιοθήκη του ιδρύματος.
9. ΙΓ Γεωργιάτσου, Δ. Κυριακίδης, Τ. Γιουψάνης, κ.ά. Εργαστηριακές Ασκήσεις Βιοχημείας. Εκδόσεις Ζήτη. Θεσσαλονίκη, 2004. Υπάρχει στη Βιβλιοθήκη του ιδρύματος.
10. Οδηγός μελέτης του μαθήματος (φυλλάδιο που χορηγείται στη διάλεξη).



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

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

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.





Σημείωμα Αναφοράς

Παπαδόπουλος, Γ. Βιοχημεία - Αρχές Βιοτεχνολογίας.
Τεχνολογικό Ίδρυμα Ηπείρου. Διαθέσιμο από:
<http://eclass.teiep.gr/courses/TEXG119/>





Σημείωμα Αδειοδότησης

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



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

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



Τέλος Ενότητας

Επεξεργασία: Αντώνιος Σακελλάριος
Άρτα, 2015



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΒΟΝΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ





Τέλος Ενότητας

Δομή και λειτουργία του RNA

