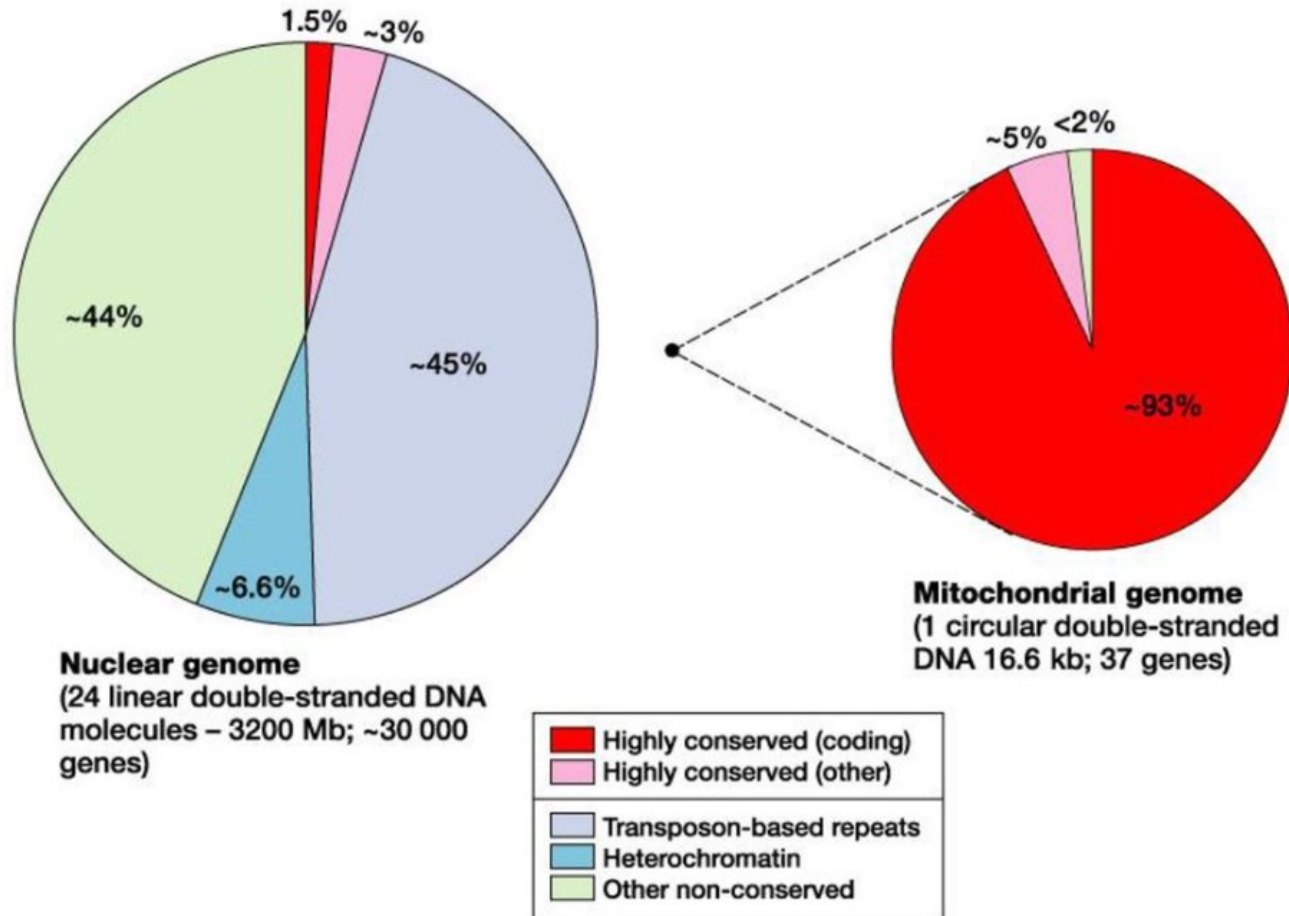


Οργάνωση γονιδιώματος

Τότα Γιαρδόγλου



Το ανθρώπινο γονιδίωμα



Το ανθρώπινο γονιδίωμα

➤ Γενικά χαρακτηριστικά **πυρηνικό γονιδιώματος**:

- ~30.000 γονίδια
- 4,5% συντηρημένες περιοχές (1,5% κωδικό DNA και 3% αμετάφραστες και ρυθμιστικές περιοχές)
 - 90-95% του κωδικού DNA παράγει πρωτεΐνη ενώ το υπόλοιπο 5-10% αντιστοιχεί σε RNA γονίδια (μη μεταφραζόμενα)
- 95,5% μη κωδικό DNA

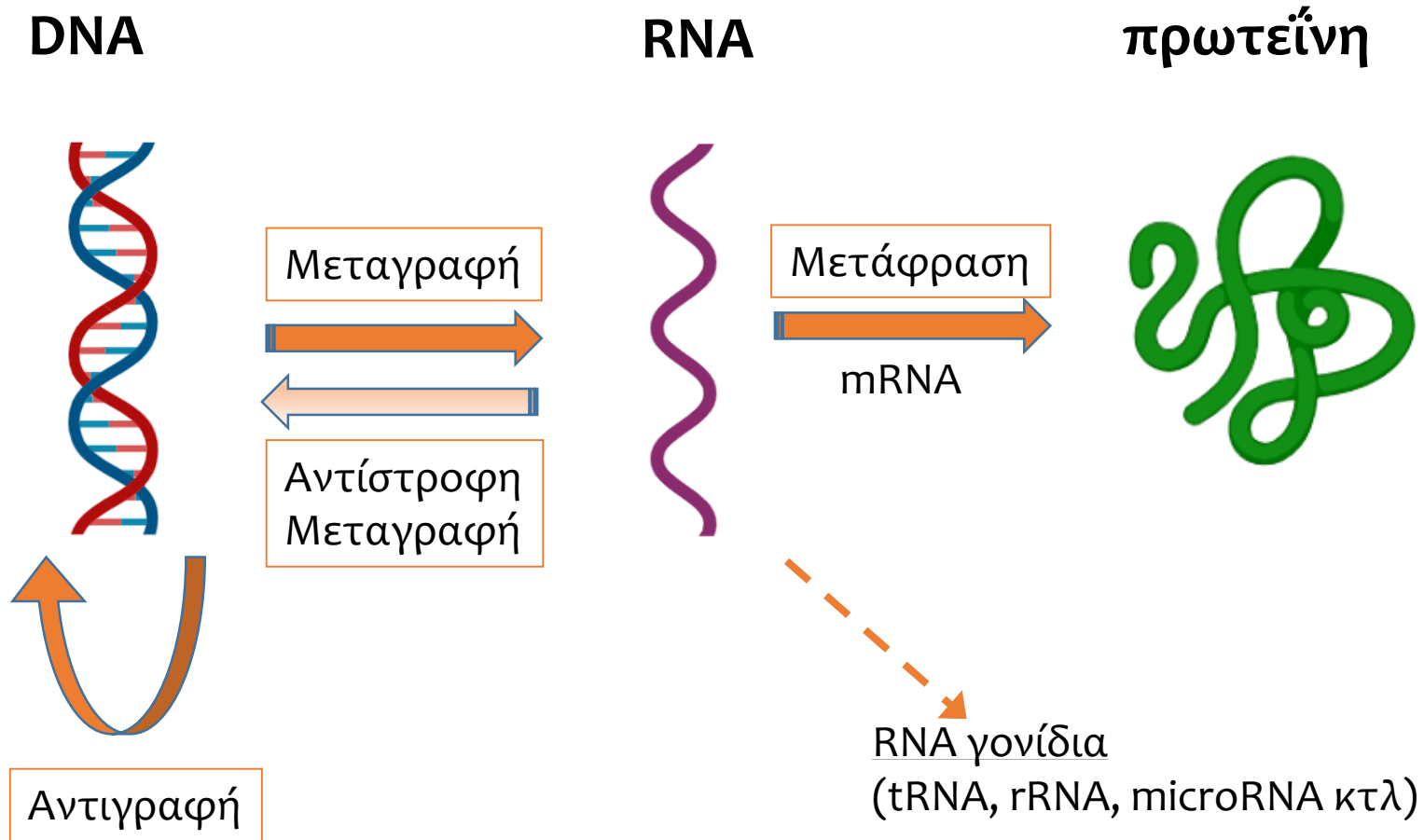
➤ Γενικά χαρακτηριστικά **μιτοχονδριακού γονιδιώματος**:

- 37 γονίδια: 22 tRNAs, 2rRNAs, 13 πολυπεπτίδια (οξειδωτικής φωσφορυλίωσης)
- 93% κωδικό DNA
- Μη σταθερός αριθμός/κύτταρο
- Μητρικής προέλευσης

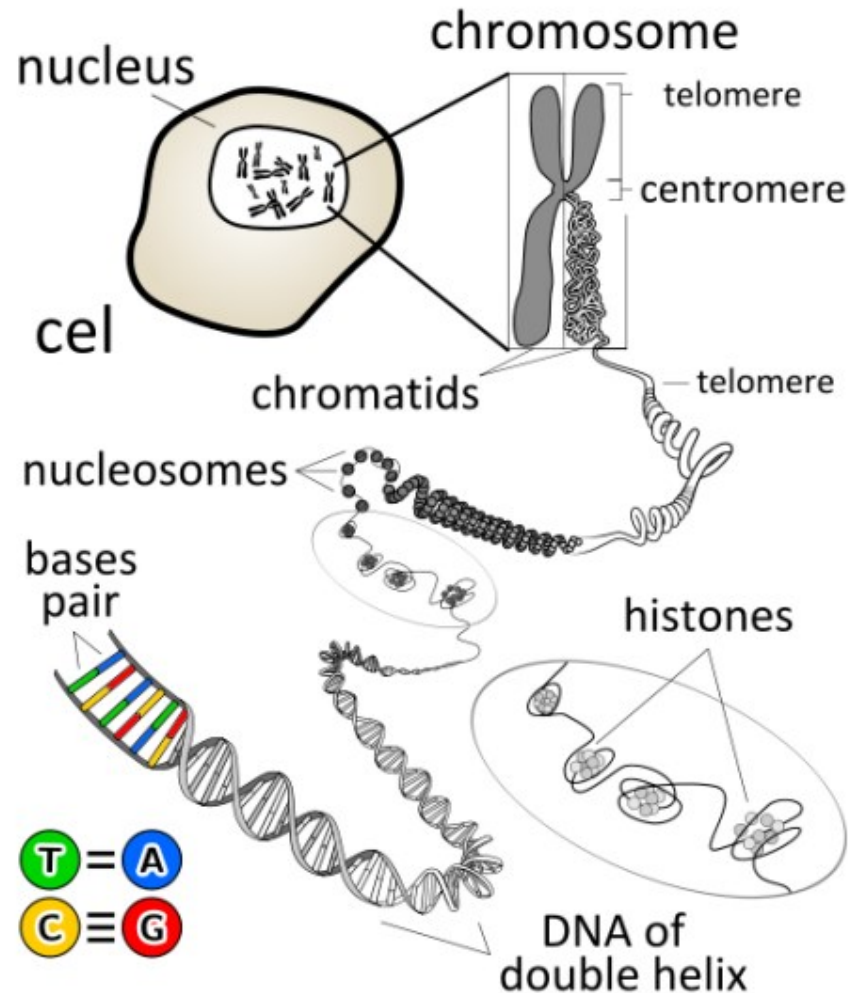
Πυρηνικό και μιτοχονδριακό γονιδίωμα

Χαρακτηριστικά	Πυρηνικό	Μιτοχονδριακό
Μέγεθος	3200 Mb	16.6 kb
Αρ. μορίων	23 ή 24 - γραμμικά	1-κυκλικό
Αρ. μορίων/κύτταρο	46 στα διπλοειδή	Μερικές χιλιάδες
Αρ. γονιδίων	~30.000	37
Πυκνότητα γονιδίων	~1/100 kb	1/0,45 kb
Επαναλαμβανόμενο DNA	> 50% του γονιδιώματος	Ελάχιστο
Συνδεδεμένες πρωτεΐνες	Ιστόνες και μη ιστόνες (πρωτεΐνες σκελετού)	Ελεύθερο πρωτεϊνών
Μεταγραφή	Η πλειοψηφία μεταγράφεται ανεξάρτητα	Ταυτόχρονη μεταγραφή γονιδίων
Ιντρόνια	Στα περισσότερα γονίδια	Δεν υπάρχουν
% κωδικό DNA	~1,5%	~93%

Κεντρικό δόγμα

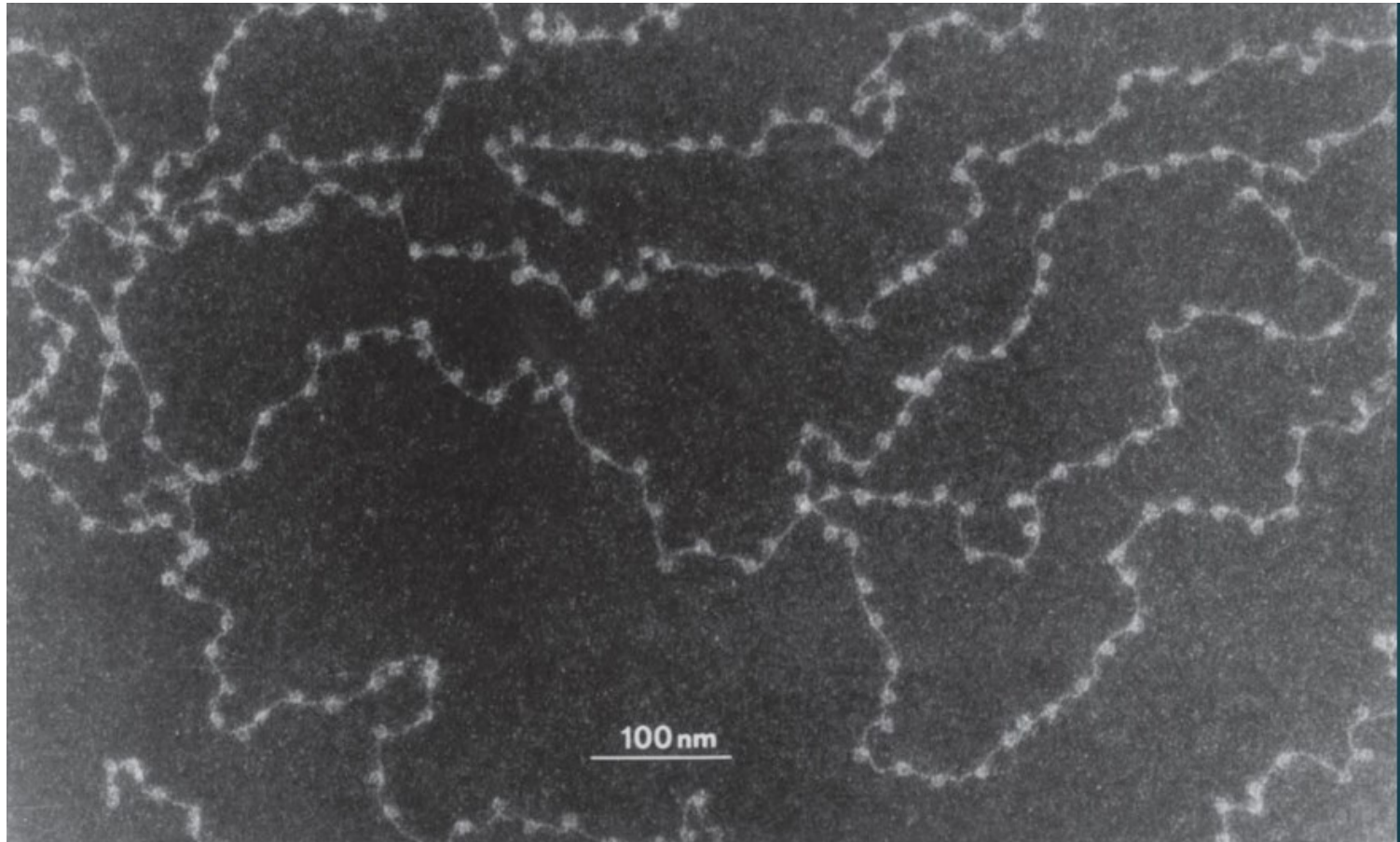


Οργάνωση χρωμοσωμάτων ευκαρυωτικού κυττάρου



Το γονιδίωμα υφίσταται έντονο πακετάρισμα

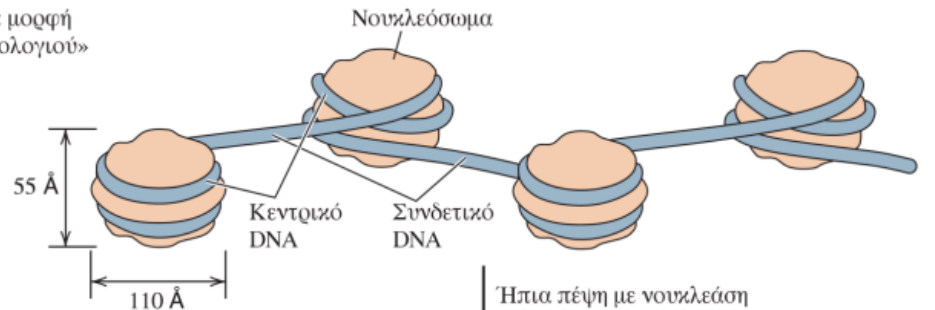
Χρωματίνη στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο



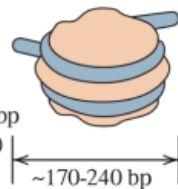
Νουκλεοσώματα σαν χάντρες διαμέτρου 11nm

Δομή της χρωματίνης

Η χρωματίνη σε μορφή
«χαντρών κομπολογιού»



Μεμονωμένα
νουκλεοσώματα
(ανάλογα με τον
οργανισμό, DNA
μεγέθους ~170-240 bp
ανά νουκλεόσωμα)

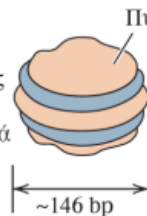


Ήπια πέψη με νουκλεάση



Παρατεταμένη πέψη με νουκλεάση

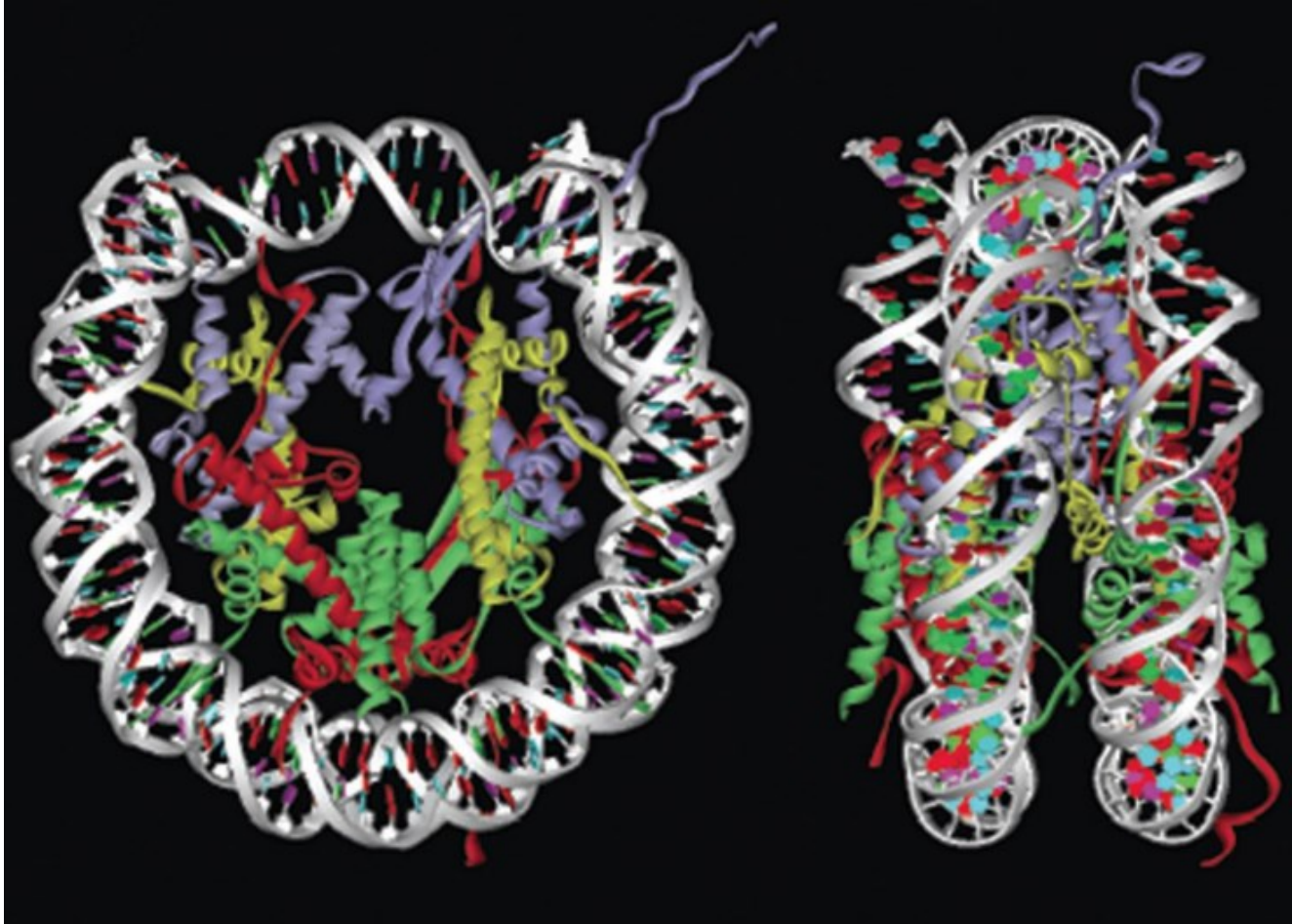
Πυρηνικά σωμάτια
του νουκλεοσώματος
(κεντρικό DNA
μεγέθους ~146 bp
ανά πυρηνικό σωμάτιο)



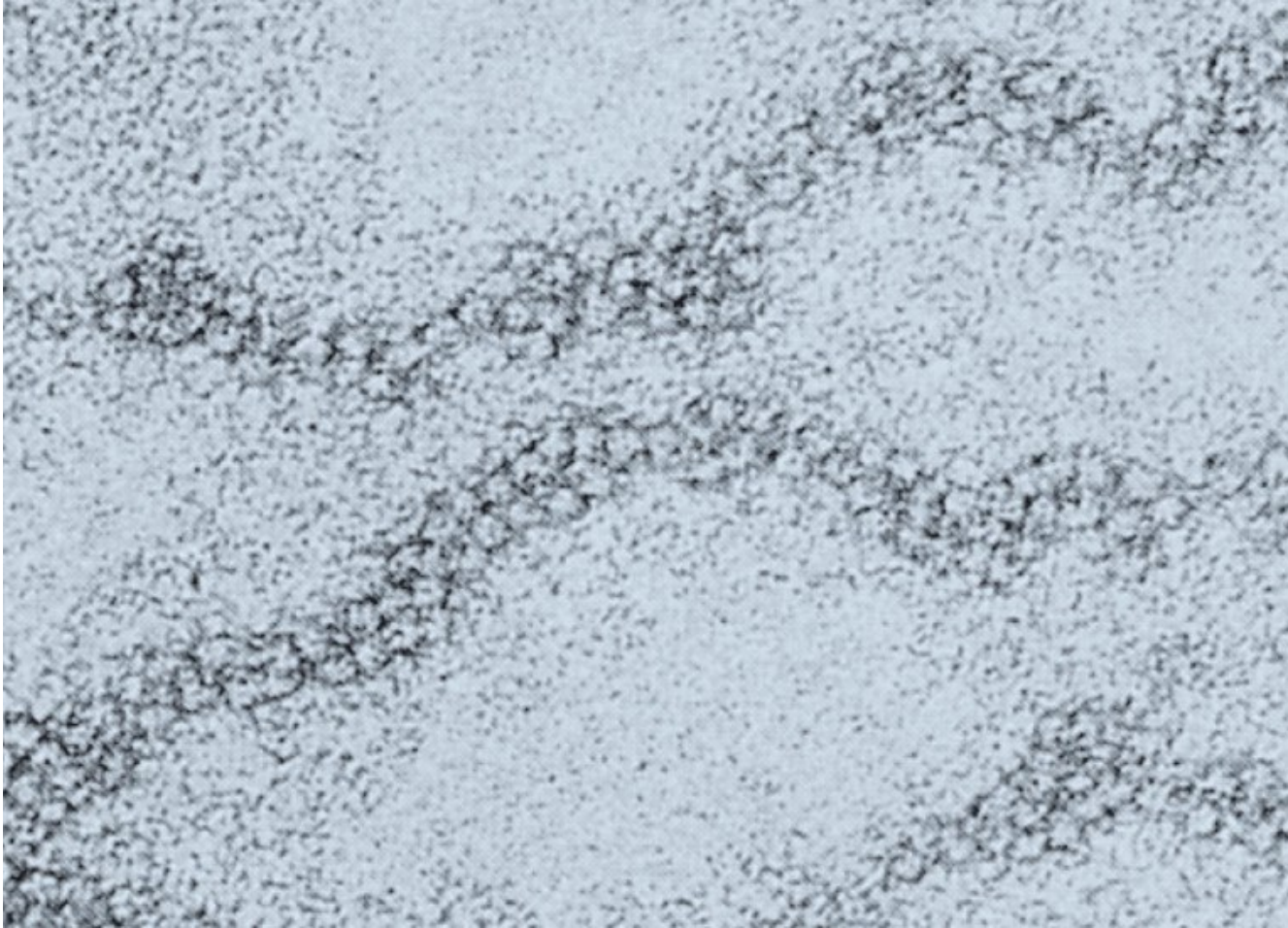
Πυρηνικό σωμάτιο



Πυρηνικό σωματίο νουκλεοσώματος



Ινίδιο χρωματίνης



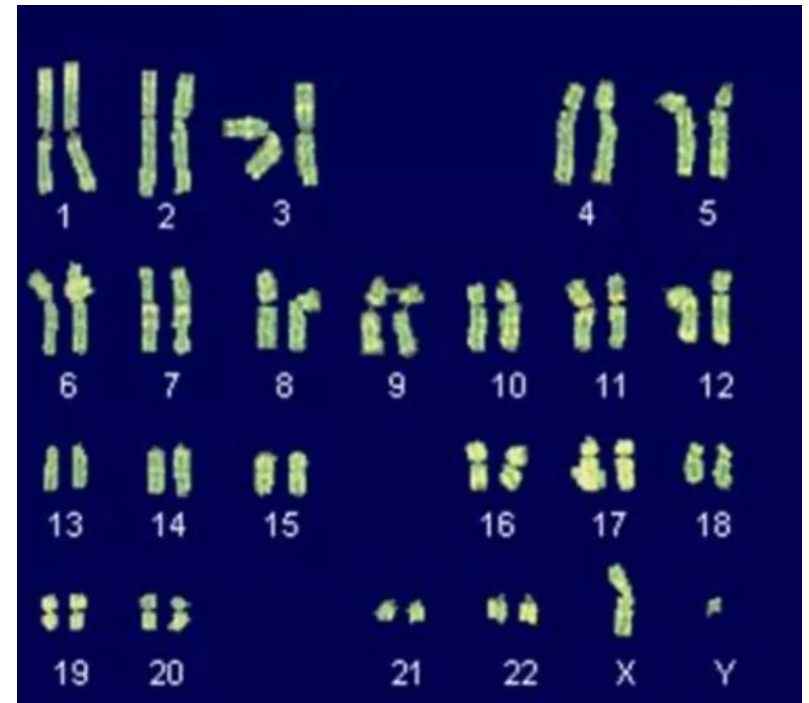
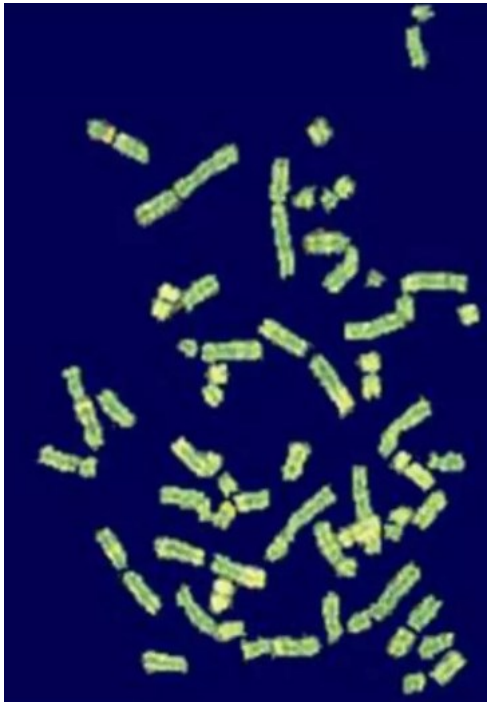
Ινίδιο χρωματίνης μήκους 30nm

Καρυότυπος

Σχηματική απεικόνιση του συνόλου των χρωμοσωμάτων
ενός κυττάρου σε ζευγάρια ομόλογων και κατά σειρά
μεγέθους

- Δείγματα από ιστούς που γίνεται μίτωση
- Τα χρωμοσώματα διατάσσονται με βάση:
 - Τη σειρά μεγέθους
 - Τη θέση του κεντρομεριδίου
 - Τη θέση και το μέγεθος ζωνών (τεχνικές ζωνώσεις μετά από χρώση, πχ ζώνες Q, G, R, C)

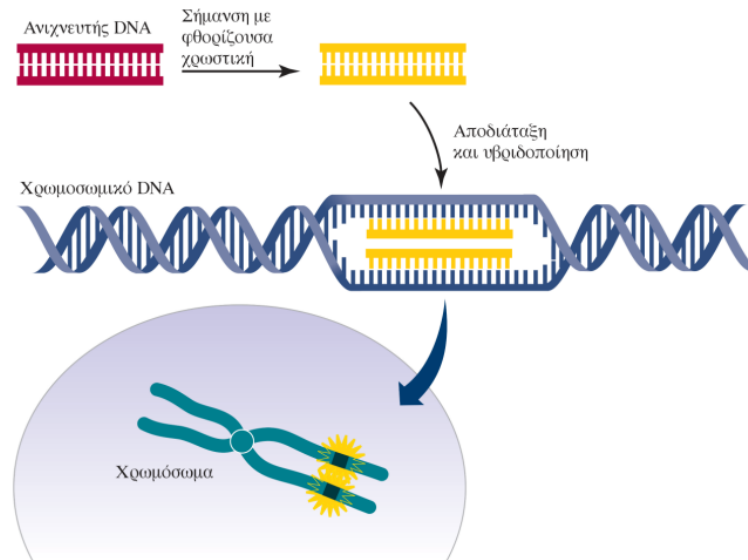
Καρυότυπος ανθρώπου



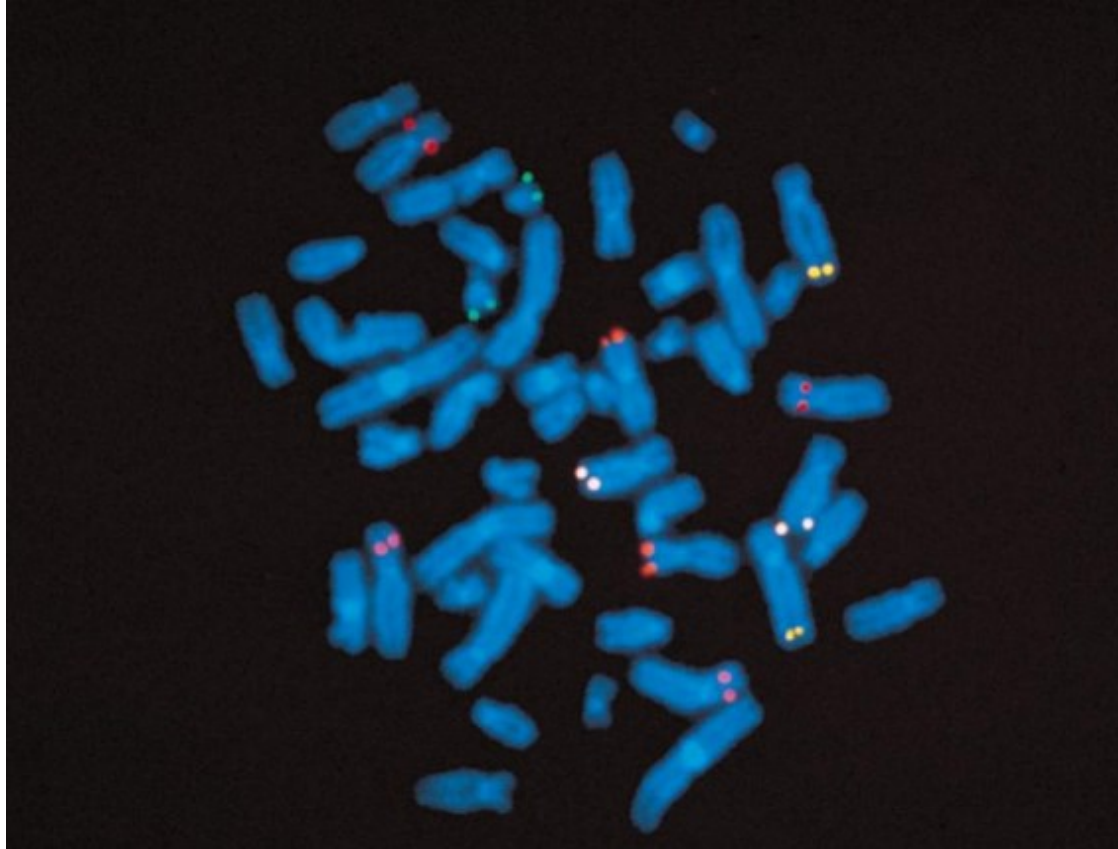
Τα ανθρώπινα σωματικά κύτταρα διαθέτουν 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων (22 ζεύγη αυτοσωμικών και 1 ζεύγος φυλετικών χρωμοσωμάτων)

Μελέτη θέσης αλληλουχιών

- *in situ* hybridization_ISH (υβριδισμός *in situ*)
 - Χρήση σημασμένων νουκλεοτιδικών ανιχνευτών για εντοπισμό αλληλουχιών «επί τόπου»
- Φθορίζων υβριδισμός (FISH)
 - Χρήση σημασμένου DNA ιχνηθέτη με φθορίζουσα ουσία

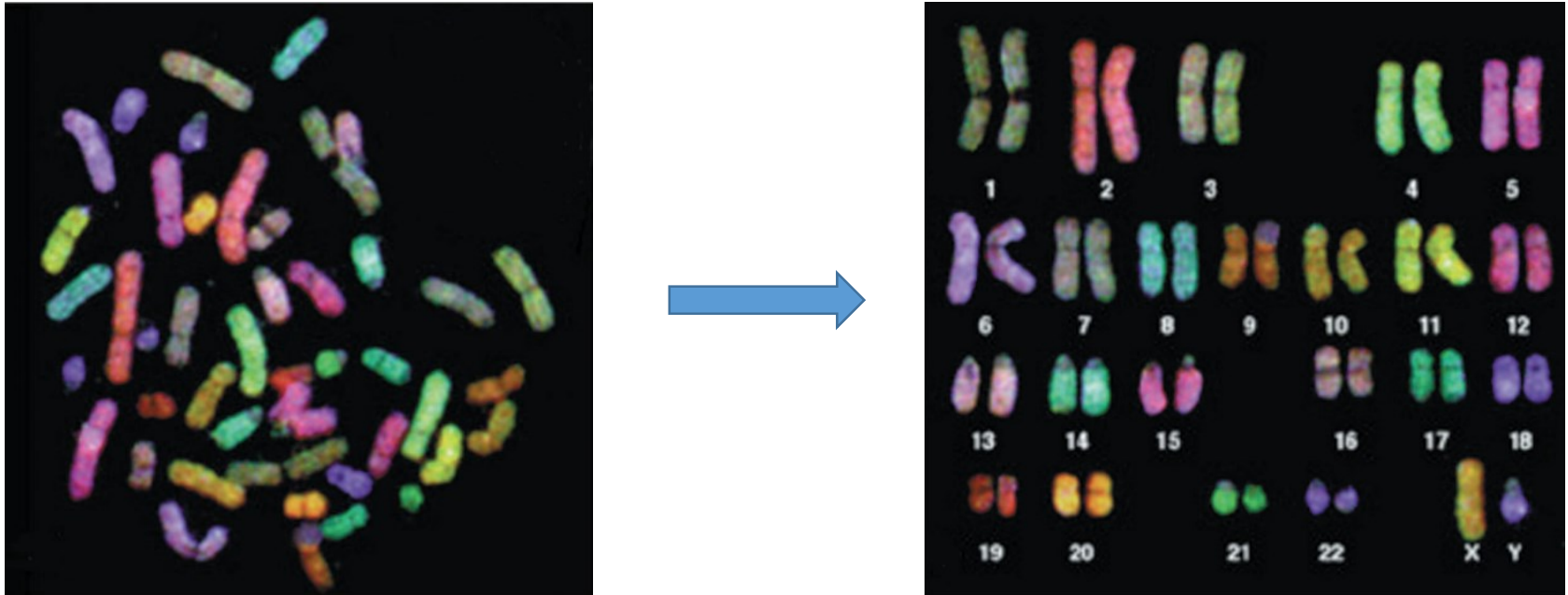


Τεχνική FISH



- Διάγνωση ανευπλοειδίας ή δομικών ανωμαλιών στα χρωμοσώματα
- Εντοπισμός αλληλουχιών/γονιδίων πάνω στα χρωμοσώματα

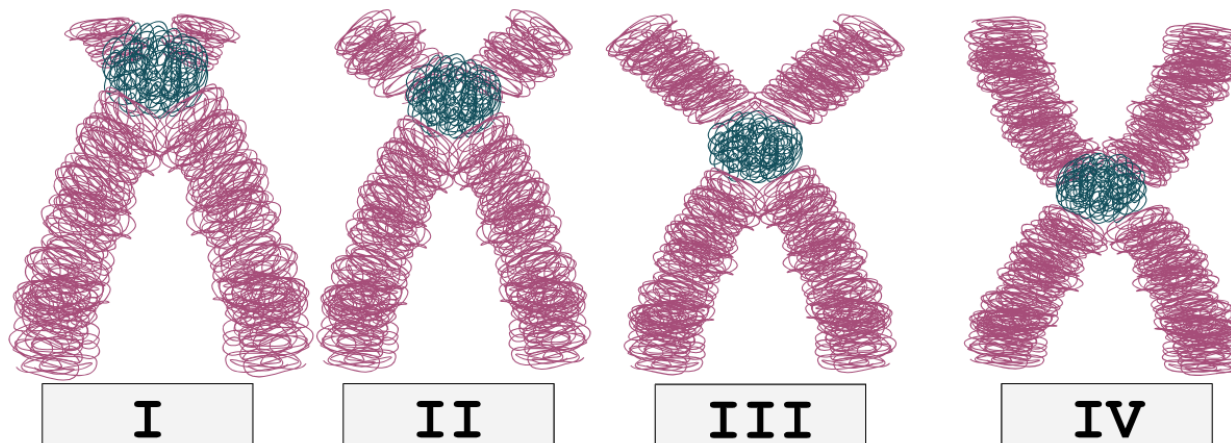
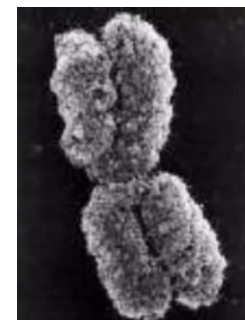
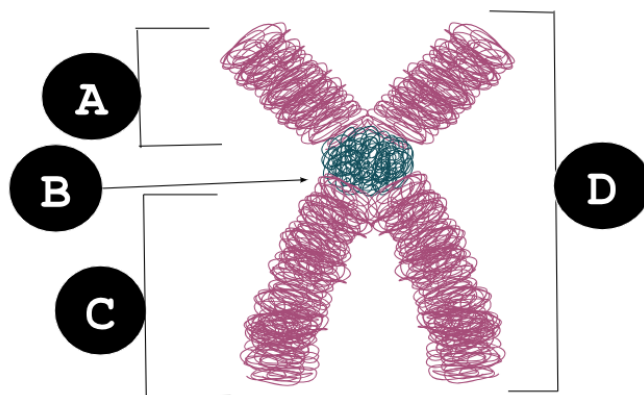
Φασματικός καρυότυπος χρωμασωμάτων



- ✓ Ιχνηθέτες σημασμένοι με διαφορετικούς συνδυασμούς φθορίζουσών χρωστικών
- ✓ Μικροσκόπιο φθορισμού
- ✓ Κάθε ζεύγος εμφανίζεται χρωματισμένο με διαφορετικό χρώμα
- ✓ Διάταξη ανά ζεύγη ομόλογων χρωμοσωμάτων

Μεταφασικό χρωμόσωμα

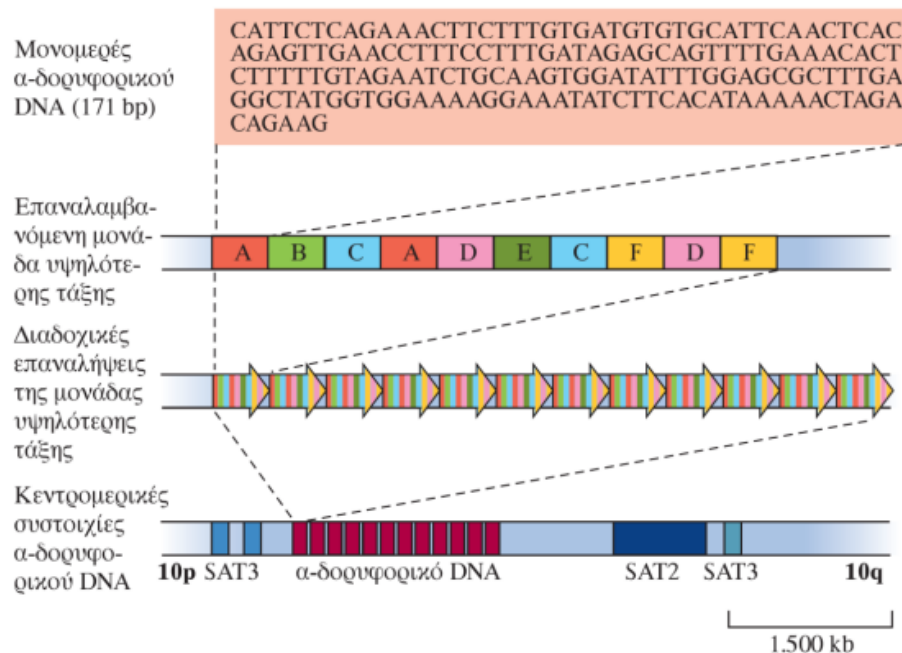
- A. Κοντός βραχίονας (p)
- B. Κεντρομερίδιο
- C. Μακρύς βραχίονας (q)
- D. Αδελφές χρωματίδες



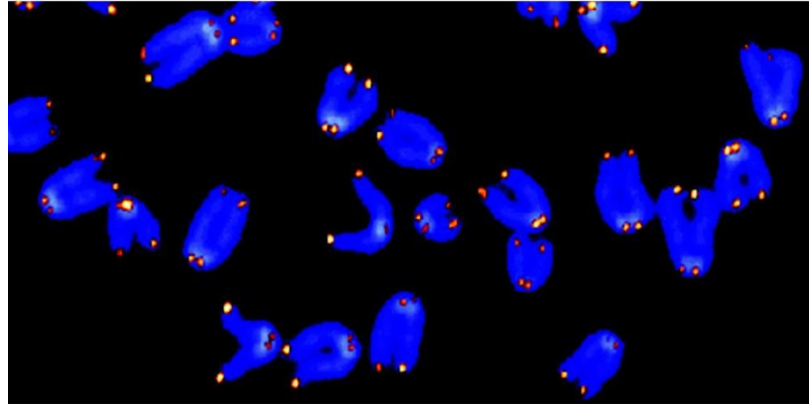
- I. Τελοκεντρικό - κεντρομερίδιο πολύ κοντά στην κορυφή
- II. Ακροκεντρικό - $q > p$
- III. Υπομετακεντρικό - $q \sim p$ αλλά όχι ίσοι
- IV. Μέτακεντρικό - $q \sim p$, χρωμοσώματα σε σχήμα X

Οργάνωση κεντρομεριδίου

- Μεγάλες σειρές επαναλαμβανόμενου DNA (πχ. δορυφορικού)
- Συσκευάζονται σε ετεροχρωματίνη
- Κύρια κεντρομεριδιακή επαναλαμβανόμενη μονάδα: α-δορυφόρος



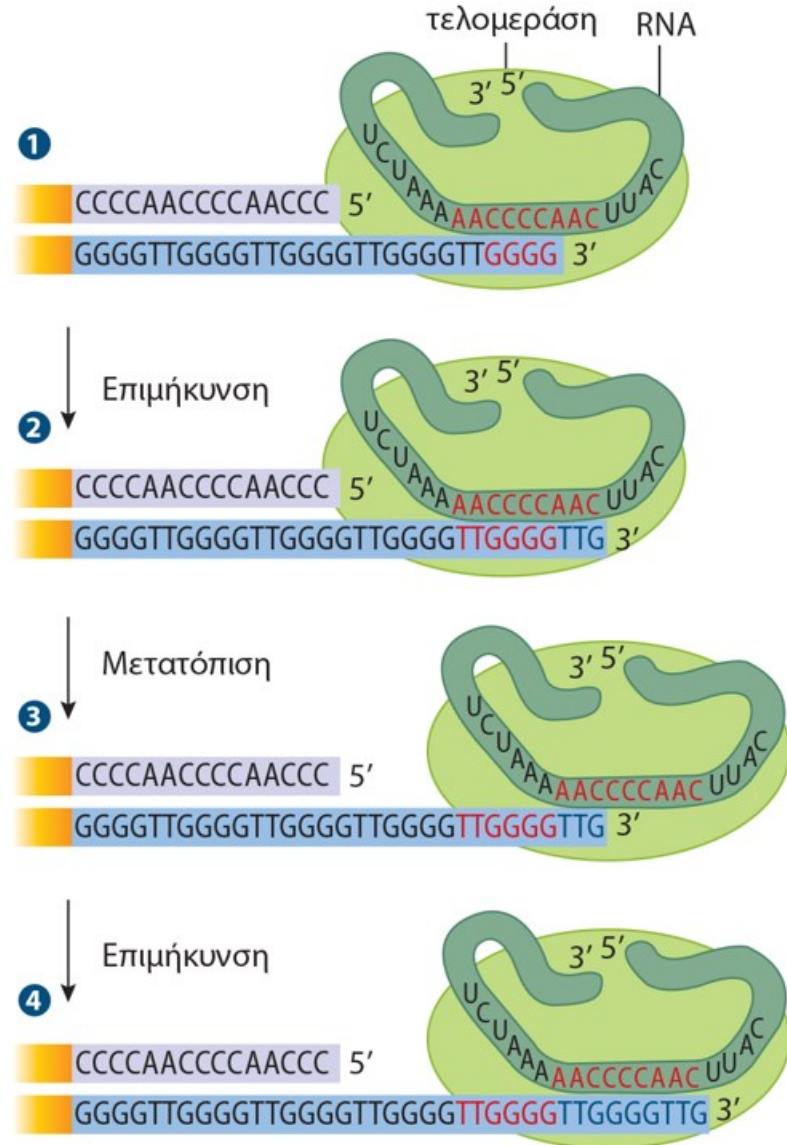
Τελομερή



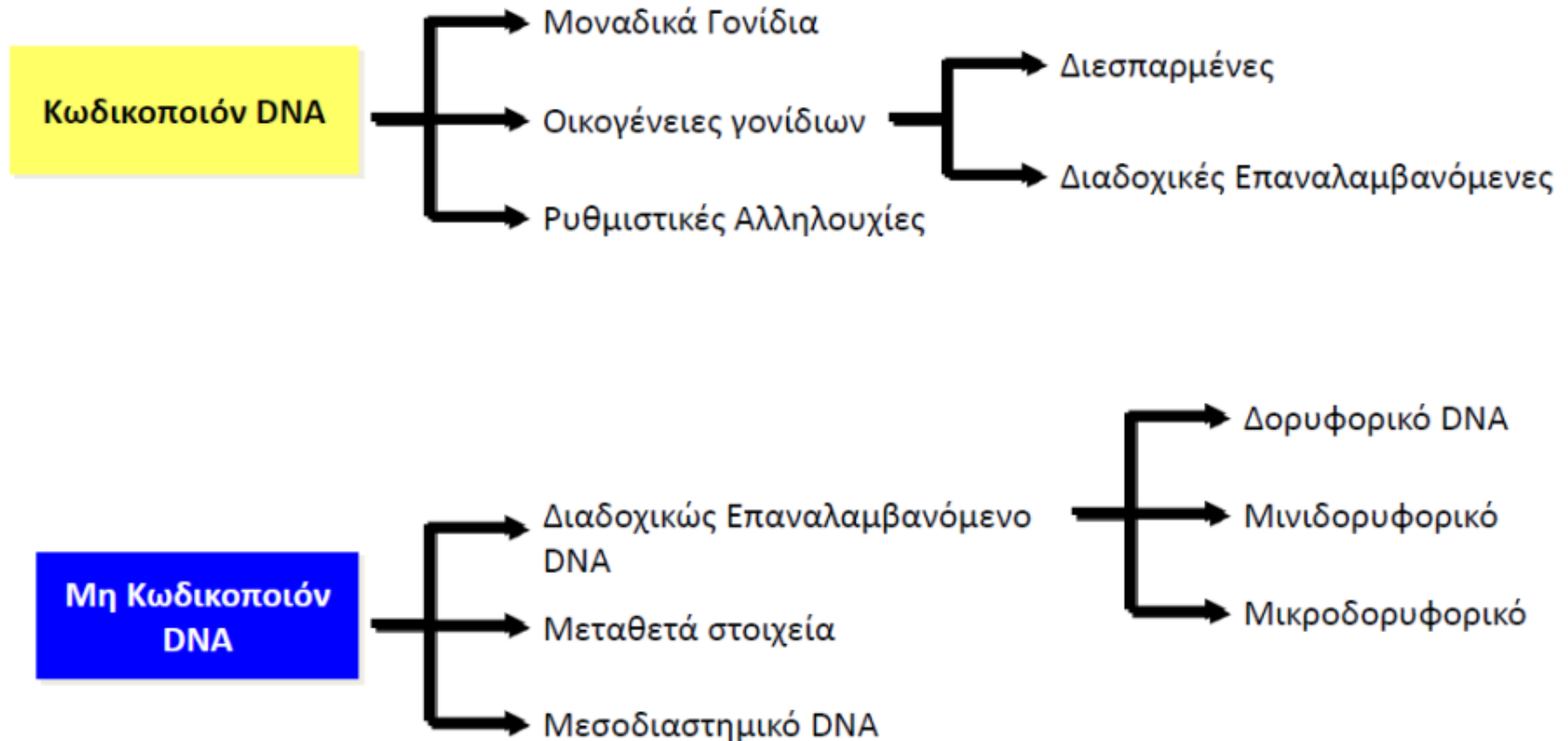
- Επαναλαμβανόμενες, μη κωδικοποιητικές αλληλουχίες
- Δεν περιέχουν γονίδια αλλά DNA με πολλές επαναλήψεις μικρής νουκλεοτιδικής αλληλουχίας (στον άνθρωπο TTAGGG)
- Προστατευτικό για τα γονίδια του οργανισμού
- Καθυστερεί τη βράχυνση των χρωσωμικών άκρων κατά τους διαδοχικούς κύκλους αντιγραφής

Τελομεράση

- Ένζυμο που καταλύει την επιμήκυνση των τελομερών στα γαμετικά κύτταρα
- Προσθέτει νέες επαναλαμβανόμενες μονάδες στο 3' άκρο της προεξέχουσας αλυσίδας
- Αποτελείται από πρωτεΐνη σε συνδυασμό με RNA (ριβονουκλεοπρωτεΐνη)



Οργάνωση αλληλουχιών χρωμοσώματος

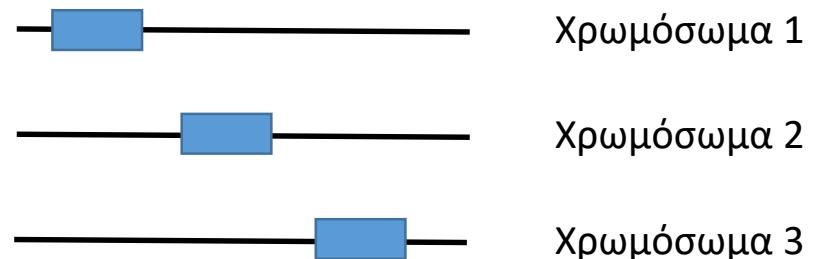


Αλληλουχίες που απαρτίζουν το χρωμόσωμα

- Μοναδικό DNA: 30-75% του γονιδιωματος
- Μεσοεπαναλαμβανόμενο DNA: 1-30% του γονιδιωματος (10-1000 αντίγραφα)
- Υψηλά επαναλαμβανόμενο DNA: 5-45% του γονιδιωματος (μέχρι 10^7 αντίγραφα)

Οικογένειες γονιδίων

- Οικογένειες γονιδίων –Γονιδιακός Διπλασιασμός και εξελικτική απόκλιση από κοινό προγονικό γονίδιο (σχετίζονται συνήθως με το ανοσοποιητικό και νευρικό σύστημα)
- Το ένα αντίγραφο μπορεί να:
 - Χαθεί
 - Αναπτύξει μία καινούρια λειτουργία
 - Ειδικευτεί σε διαφορετικό μέρος της παλιάς λειτουργίας
- Ομαδοποιημένη οικογένεια ή διάσπαρτη οικογένεια

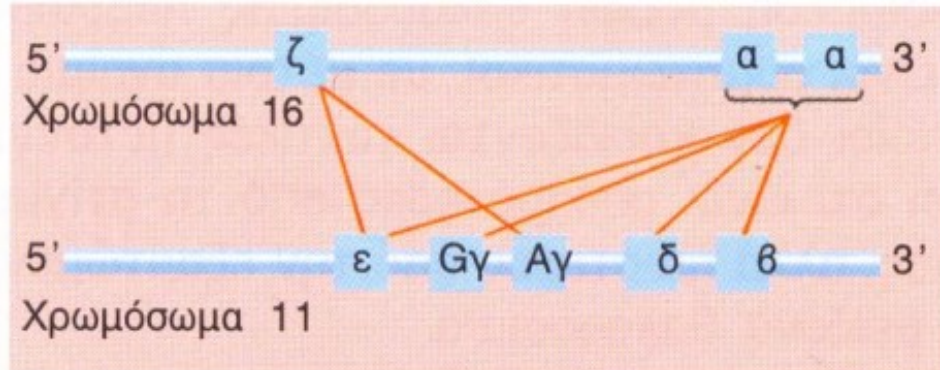


Οικογένειες γονιδίων

Τα στάδια παραγωγής αιμοσφαιρίνης στον άνθρωπο διακρίνονται σε:

Εμβρυονικό στάδιο: τρεις πρώτοι μήνες κύησης
Εμβρυϊκό στάδιο : τρεις έως έξι μήνες κύησης
Στάδιο Ενηλίκου: έξι μήνες μετά τη γέννηση και εντεύθεν

Θέσεις
γονιδίων



Αιμοσφαι-
ρίνες
(αλυσίδες)

Gower 1 ($\zeta_2\epsilon_2$)	HbF ($\alpha_2\gamma_2$)	HbA ₂ ($\alpha_2\delta_2$)
Gower 2 ($\alpha_2\epsilon_2$)		HbA ($\alpha_2\theta_2$)
Portland ($\zeta_2\gamma_2$)		
Εμβρυο- νικό	Εμβρυϊ- κό	Ενηλίκου

Επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες

- Επαναλαμβανόμενα γονίδια – λειτουργικά
- Διαδοχικές επαναλήψεις (tandem repeats)
 - Απαραίτητα σε μεγάλες ποσότητες, πχ rRNA, tRNA, γονίδια ιστονών
 - Εμφανίζουν υψηλή ομολογία
 - Διαχωρίζονται από μεσοδιαστημικό DNA
- Διασπαρμένες επαναλήψεις (interspersed repeats)

Ψευδογονίδια

- Αλληλουχίες που «μοιάζουν» σε γνωστά γονίδια χωρίς να είναι λειτουργικές – Ελαττωματικά αντίγραφα γονιδίων
 - Μεταλλάξεις → μη λειτουργικά
 - Έλλειψη ρυθμιστικών στοιχείων
 - Μέρη/τμήματα γονιδίου
- Μετατοπίσεις αναγνωστικού πλαισίου σε πλεονάζοντα αντίγραφα (διπλασιασμοί) σε προγονικό γονίδιο
- Δεν υπάρχουν ρυθμιστικές περιοχές έκφρασης
- Συνήθως δεν διαθέτουν ιντρόνια

Επαναλαμβανόμενο μη-κωδικοποιόν DNA

- Δορυφορικό DNA
 - περικεντρομερικές περιοχές, μοτίβα λίγων νουκλεοτιδίων, εκατοντάδες kb)
- Μινι-δορυφορικό DNA
 - μοτίβο 10-100 νουκλεοτιδίων, λίγα kb
- Μικρο-δορυφορικό DNA
 - μοτίβο 2-4 νουκλεοτιδίων, λίγα bp

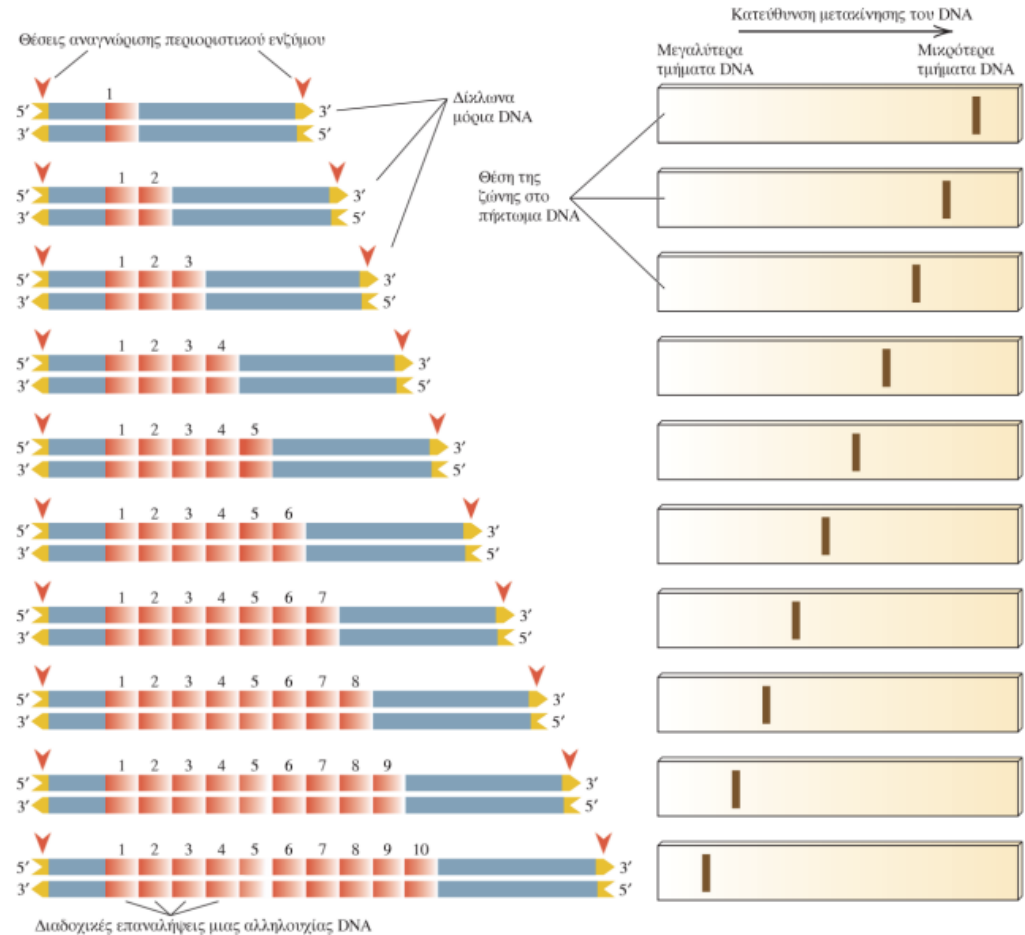


Variable number
tandem repeats (VNTR)/
Μεταβλητός αριθμός
διαδοχικών επαναλήψεων
DNA

- Ιατροδικαστική αναγνώριση
- Ανάλυση συγγένειας (εξέταση πατρότητας)
- Γενετική πληθυσμών (συγγένεια υποειδών, ομάδων, ατομών)

Επαναλαμβανόμενο μη-κωδικοποιόν DNA

Γενετικός πολυμορφισμός στον οποίο τα αλληλόμορφα που υπάρχουν σε έναν πληθυσμό διαφέρουν ως προς τον αριθμό αντιγράφων μιας αλληλουχίας DNA που επαναλαμβάνεται διαδοχικά κατά μήκος του χρωμοσώματος.



Μεταθετά στοιχεία



- Barbara McClintock (USA, 1902-1992)
- Νόμπελ Φυσιολογίας ή Ιατρικής, 1983
- «Γενετικά στοιχεία μπορούν να μετακινηθούν και να προκαλέσουν την ενεργοποίηση ή απενεργοποίηση γειτονικών γονιδίων»

Μεταθετά στοιχεία

Οι μεταβολές του
χρωματισμού των σπόρων
μπορούν να εξηγηθούν με
βάση τη μετακίνηση των
στοιχείων DNA στο
χρωμόσωμα



Μεταθετά στοιχεία

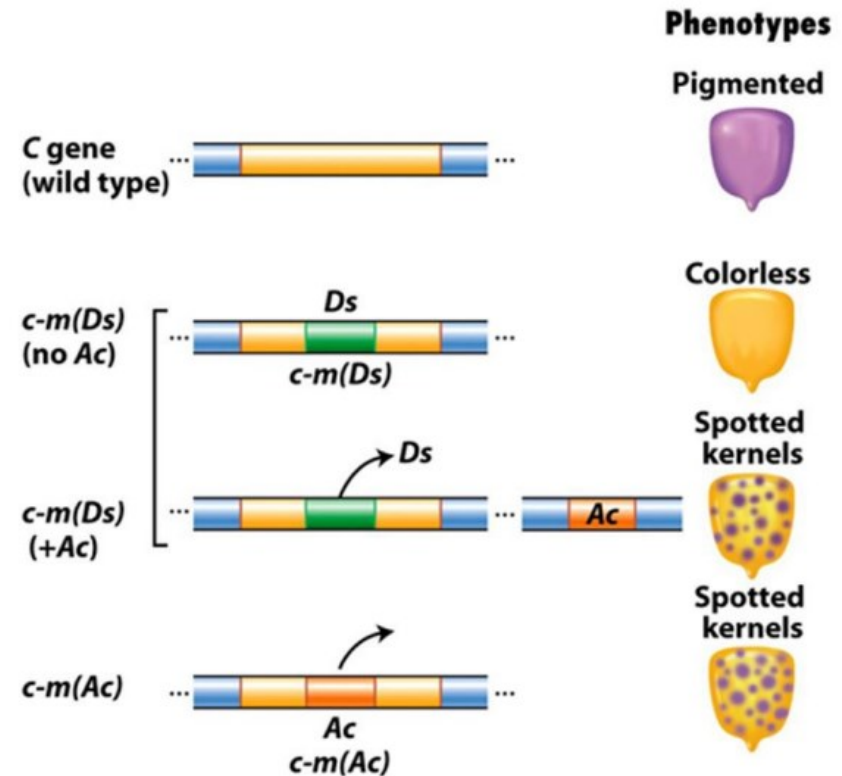
Η ανθοκυανίνη δίνει το σκούρο βιολετί χρώμα στους κόκκους καλαμποκιού

- Σταθερές μεταλλαγές στο γονίδιο της ανθοκυανίνης: όλοι οι σπόροι χρώμα λευκό

- Ασταθείς μεταλλαγές: επανεμφάνιση μωβ χρώματος



Υπαρξη δύο γενετικών στοιχείων (Ac και Ds) με τη δυνατότητα να ενσωματώνονται και να απομακρύνονται στο γονιδίωμα



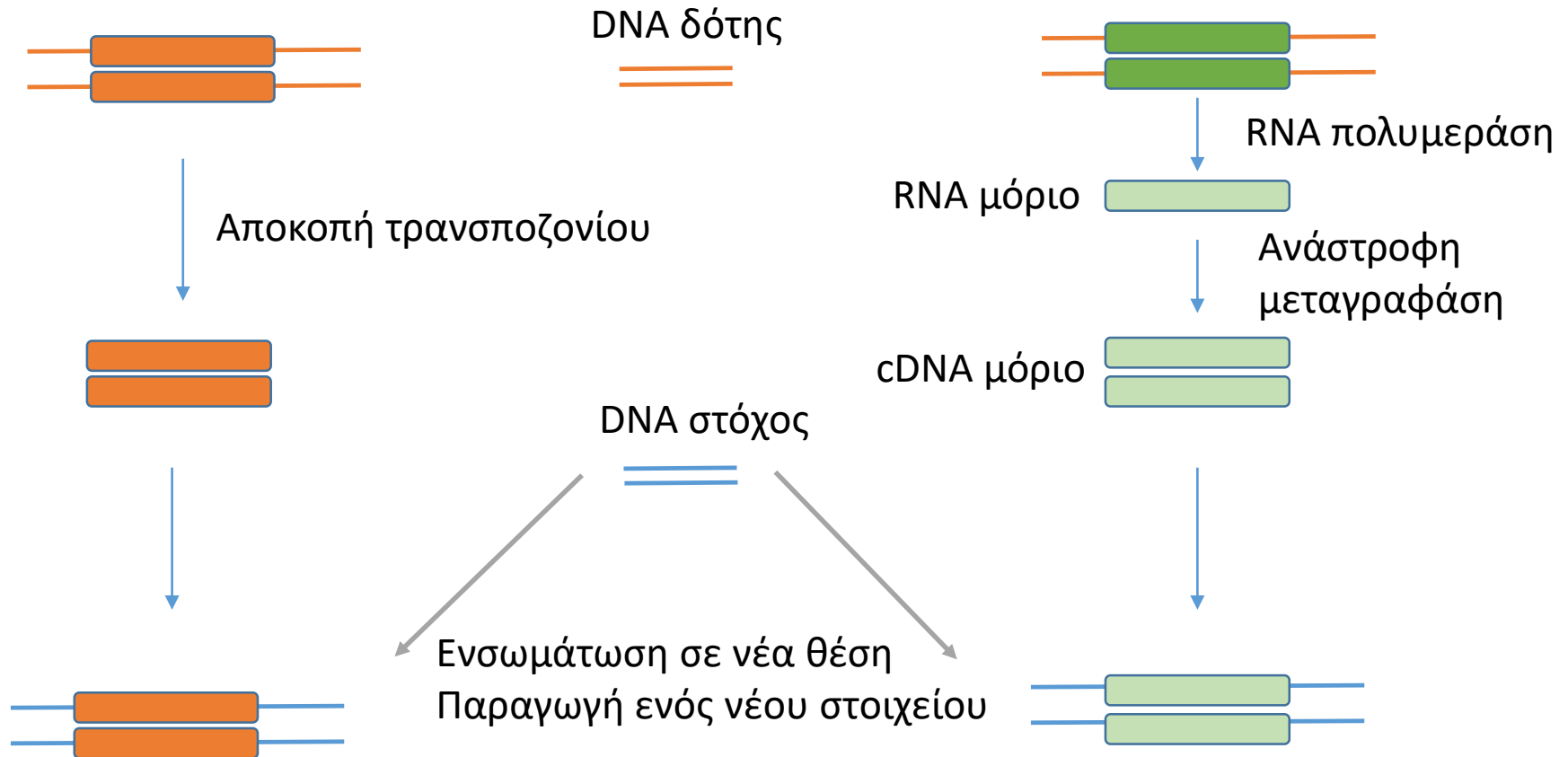
Μεταθετά στοιχεία

- Ακολουθίες γενετικών στοιχείων που μπορούν να μετακινηθούν από μία θέση σε μία άλλη ή από ένα μόριο DNA σε ένα άλλο
- DNA μεταθετόνια (Transposons)
 - Κινητά γενετικά στοιχεία χωρίς ενδιάμεσο στάδιο
- Ρετρομεταθετόνια (Retrotransposons)
 - Πραγματοποίηση μετακίνησής τους μέσω ενδιάμεσου σταδίου RNA και ανάστροφης μεταγραφής

Μεταθετά στοιχεία

DNA μεταθετόνια/τρανσποζόνια

Ρετρομεταθετόνια/ρετροτρανσποζόνια



Μεταθετά στοιχεία στον άνθρωπο

- **LINES** (long interspersed elements) → αυτόνομα στοιχεία που περιέχουν την πληροφορία που απαιτείται για τη μετακίνησή τους
~17% γονιδιώματος
 - **SINES** (short interspersed elements) → μη αυτόνομα που εξαρτώνται από τα στοιχεία LINES (δεν μπορούν να μετακινηθούν παρά μόνο όταν συνυπάρχουν με αυτόνομα στοιχεία)
~15% γονιδιώματος
 - **LTR** (long terminal repeats) ρετροτρανσποζόνια → βρίσκονται εκατέρωθεν μιας κωδικούσας περιοχής
~8% γονιδιώματος
 - **DNA τρανσποζόνια** (“jumping genes”)
~3% γονιδιώματος
- Τα μεταθετά στοιχεία αποτελούν **σχεδόν το 50%** του ανθρώπινου γονιδιώματος

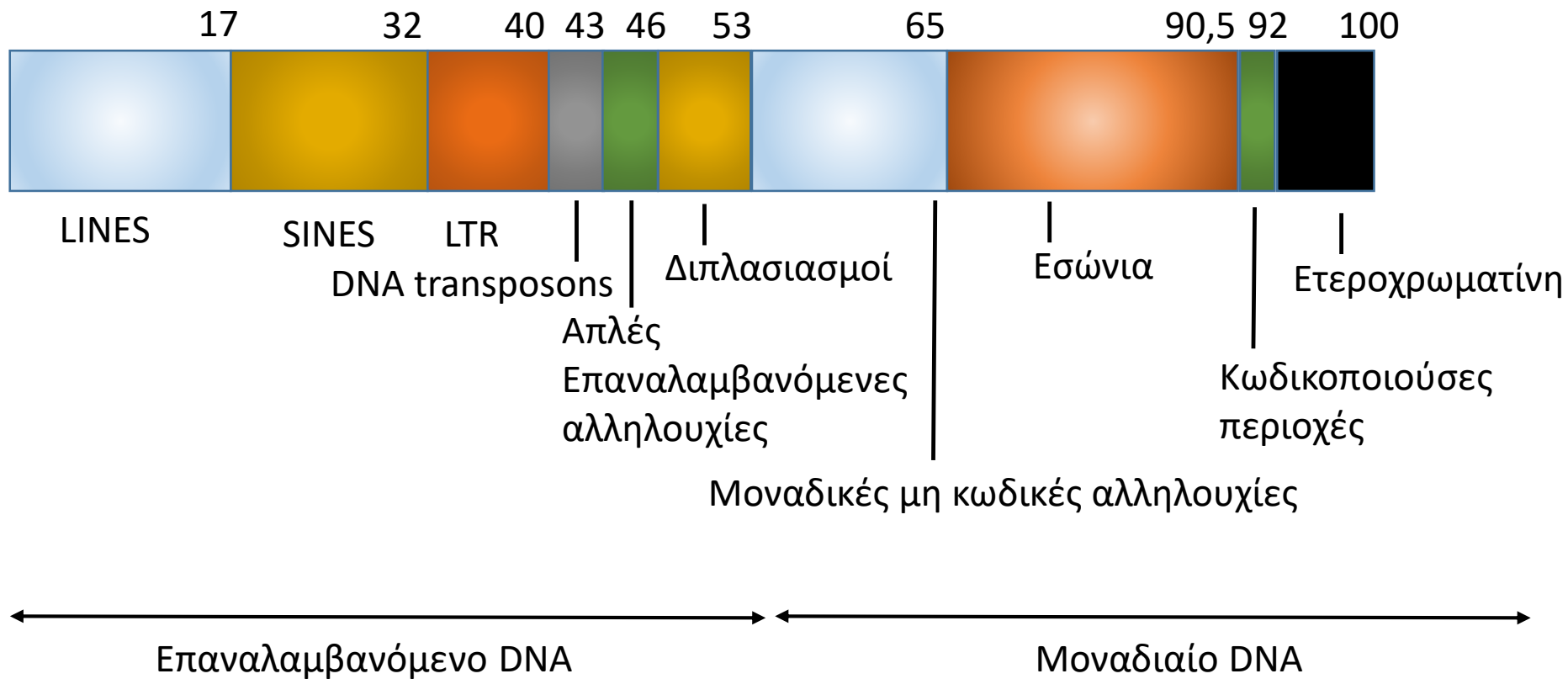
Βιολογική σημασία μεταθετών στοιχείων

- Τα τρανσποζόνια προκαλούν αναδιατάξεις στο DNA
Ελλείματα, ενθέσεις, διπλασιασμοί
- Τα μεταθετά στοιχεία μπορούν να προκαλέσουν μεταλλάξεις
Είσοδος σε κωδικοποιούσα περιοχή → απουσία προϊόντος
Είσοδος σε ρυθμιστική περιοχή → αύξηση ή μείωση μεταγραφής
- Προσφέρουν προσαρμοστικό πλεονέκτημα υπό ορισμένες συνθήκες

Πώς επιβιώνουν οι οργανισμοί από τις αρνητικές επιδράσεις των μεταθετών στοιχείων;

- Διατήρηση μεταθετών σε ιντρονικές περιοχές
- Μεγάλο ποσοστό ανενεργών μεταθετών ακολουθιών
- Πιθανοί μηχανισμοί ρύθμισης της λειτουργικότητάς τους

Το γονιδίωμα του ανθρώπου



Γενετικά στοιχεία του ανθρώπινου γονιδιώματος

Γενετικό στοιχείο	Ποσοστό (%)
LINES	20,4
SINES	13,1
Μοναδικές ακολουθίες	11,6
LTR Ρετρομεταθετόνια	8,3
Ετεροχρωματίνη	8
Διπλασιασμοί	5
Επαναλήψεις ακολουθίας	3
DNA μεταθετόνια	2,9
Ιντρόνια/εσώνια	25,9
Γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες	1,5

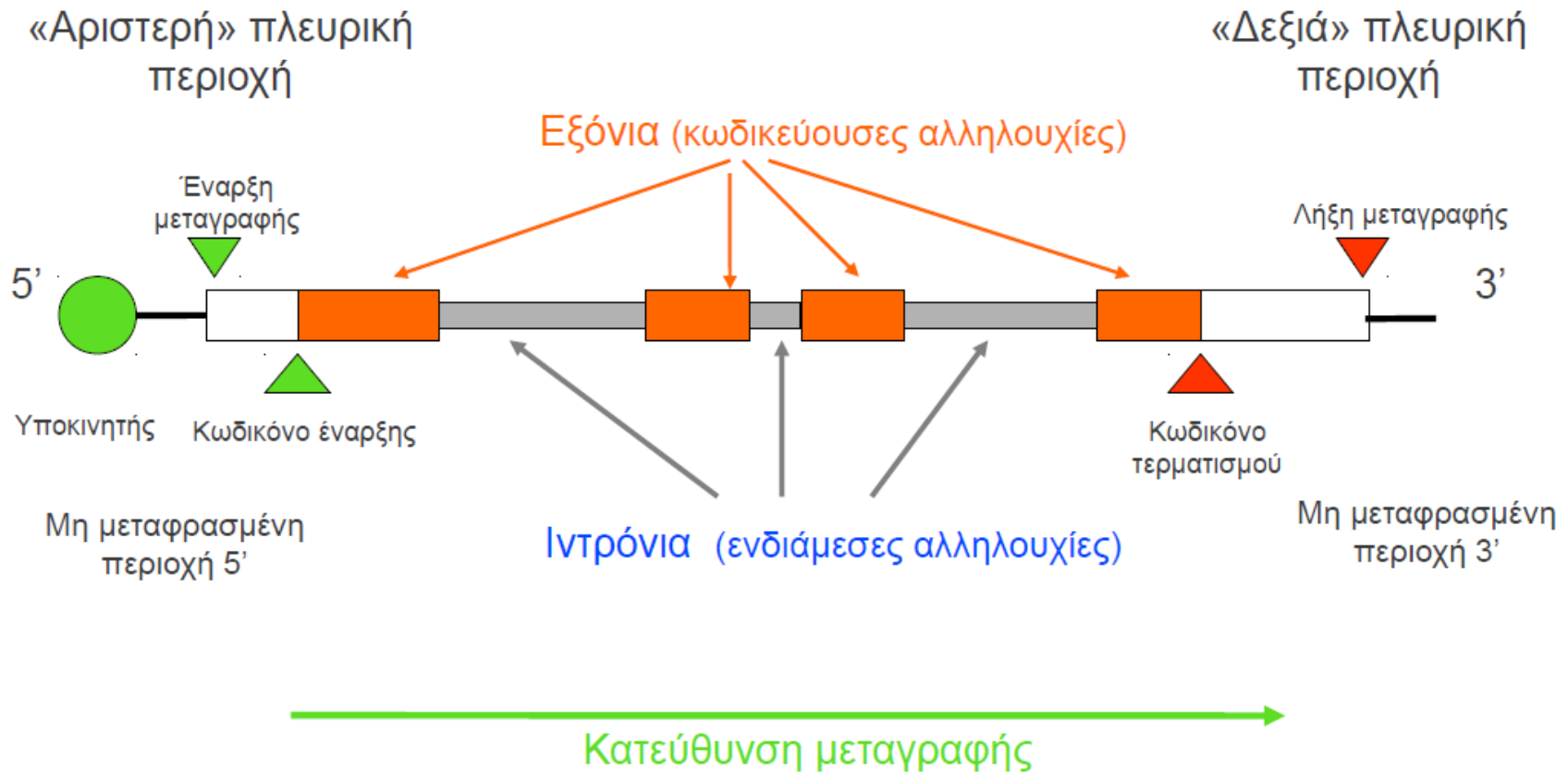
Γονίδια

- Αλληλουχία χρωμοσωμικού DNA που απαιτείται για την παραγωγή ενός λειτουργικού προϊόντος
 - Κωδικεύουσες αλληλουχίες
 - Μοναδικά γονίδια
 - Οικογένειες γονιδίων
 - Μη κωδικεύουσες αλληλουχίες πχ RNA γονίδια
 - Αλληλουχίες απαραίτητες για την σωστή έκφραση του γονιδίου

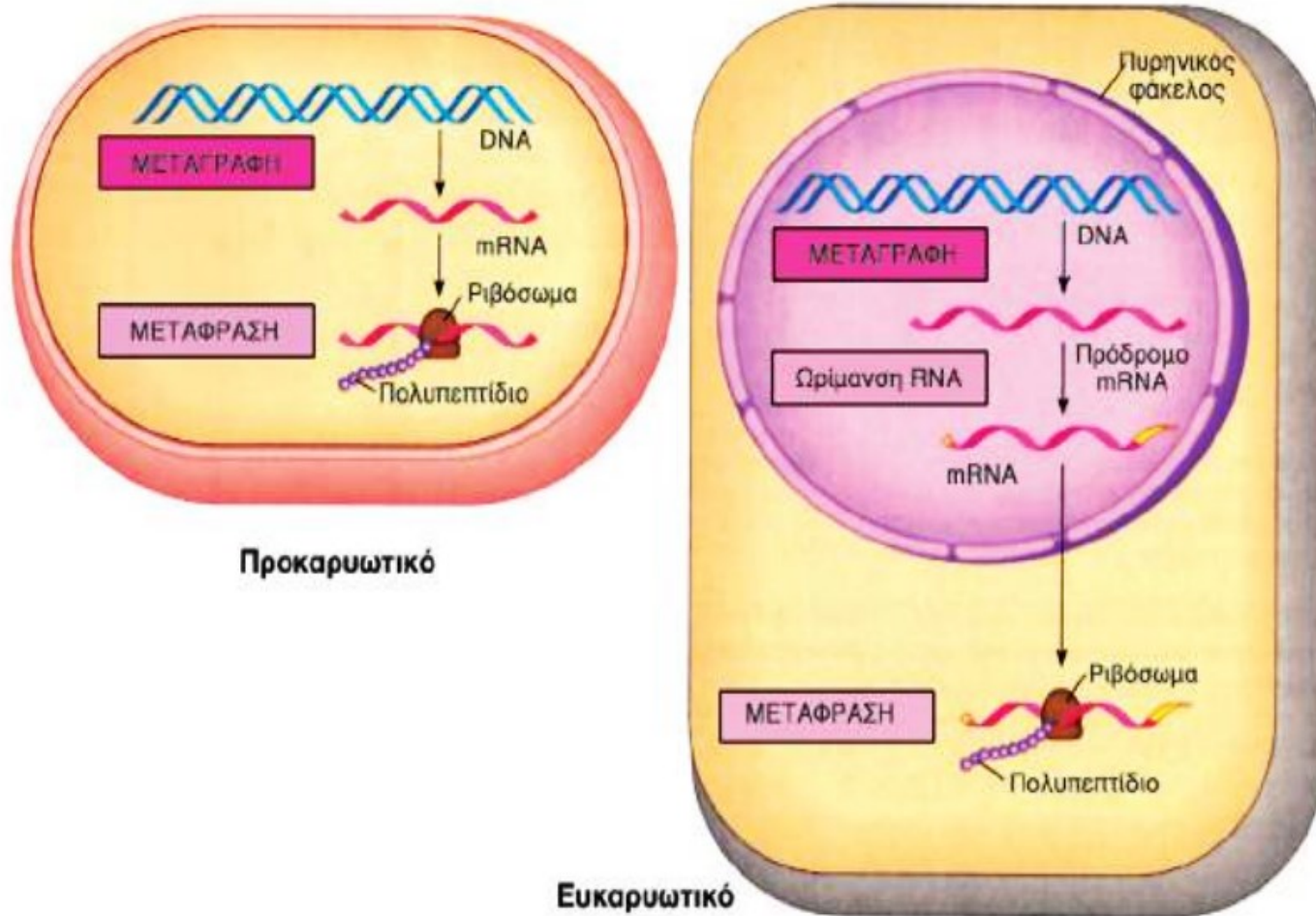
RNA γονίδια

- Περιοχή του γονιδιώματος που δεν κωδικοποιεί για μια πρωτεΐνη αλλά για μη κωδικοποιό RNA (non-coding RNA), όπως rRNA και tRNA
- Μικρού μεγέθους (small ncRNA) <200 nt που επιδρούν κυρίως μετα-μεταγραφικά
 - microRNA (miRNA)
 - Small nuclear (snRNA)
 - small nucleolar (snoRNAs)
 - small interfering RNAs (siRNAs)
 - κα
- Μεγάλου μήκους (long ncRNA) >200nt
 - Συχνά φέρουν poly-A tail
 - Δεν έχουν αναγνωστικό πλαίσιο (ORF)

Τυπική μορφή ευκαρυωτικού γονιδίου



Ροή της γενετικής πληροφορίας και κυτταρικά διαμερίσματα



Μεταγραφή, επεξεργασία, συναρμολόγηση

