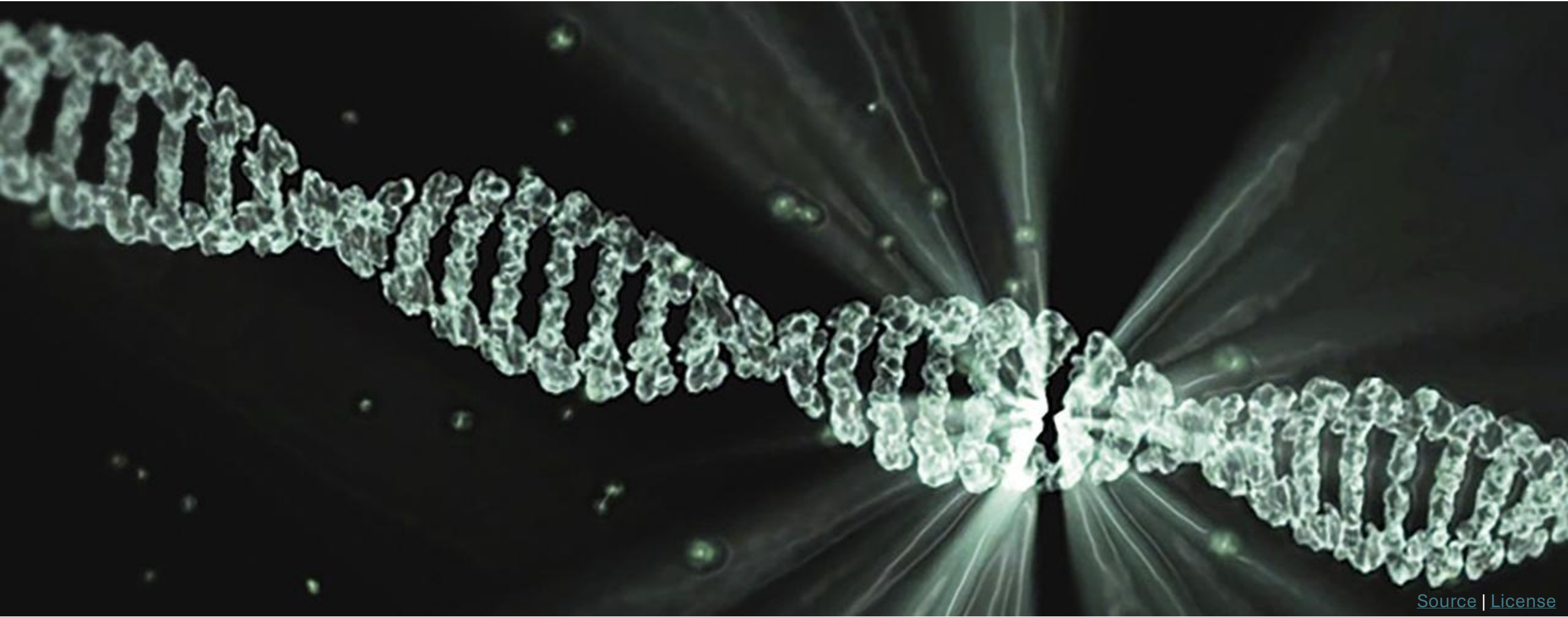




[Source](#) | [License](#)

ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ

Νικολέττα Παπαευγενίου

Βιολόγος, MSc, PhD

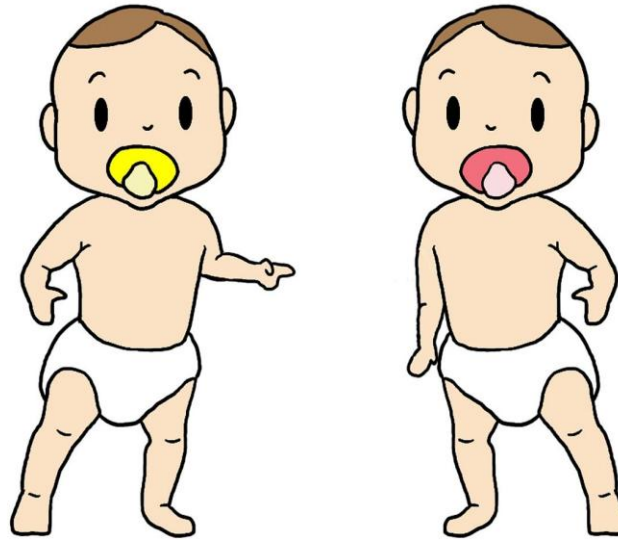
Διδάκτωρ *Friedrich Schiller University of Jena, Germany*

Πώς παράγοντες του περιβάλλοντος μας επαναπρογραμματίζουν τα κύτταρά μας χωρίς να αλλάζει τη σύσταση του γενετικού υλικού;

Group 1



Μονοζυγωτικά δίδυμα



[Source](#) [License](#)

100% όμοιο DNA

Group 2



Παράγοντες που επηρεάζουν την έκφραση γονιδίων

**ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΟΙ ΑΠΟ ΤΟ
ΑΤΟΜΟ**

**ΜΗ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΟΙ
ΑΠΟ ΤΟ ΑΤΟΜΟ**

ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΣΤΡΕΣ

ΑΣΚΗΣΗ

ΚΑΠΝΙΣΜΑ

ΑΛΚΟΟΛ



ΓΟΝΙΔΙΑ

ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑ

**ΚΟΙΝΟΝΙΚΟ-
ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΟ
ΥΠΟΒΑΘΡΟ**

ΡΥΠΑΝΣΗ

ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ

**ΥΓΕΙΑ ΜΗΤΕΡΑΣ ΚΑΤΑ
ΤΗΝ ΚΥΗΣΗ**

**ΚΛΙΜΑ/ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ
ΠΕΡΙΟΧΗ**

ΓΕΝΕΤΙΚΗ

- Γενετική → **ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ**
- Καθορισμένη αλληλουχία DNA
- «γραμμένη» και κωδικοποιημένη σε κωδικές (**γονίδια**) και μη κωδικές περιοχές με τη χρήση τεσσάρων βάσεων οργανωμένα σε ζεύγη:
 - ο αδερίνη (A)-θυμίνη (T)
 - ο γουανίνη (G)-κυτοσίνη (C)



VS



ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ

- Επι+γενετική → **ΠΑΝΩ ΣΤΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ**
- Η αλληλουχία DNA μένει σταθερή
- Ρυθμίζεται η **έκφραση** των γονιδίων από παράγοντες περιβάλλοντος

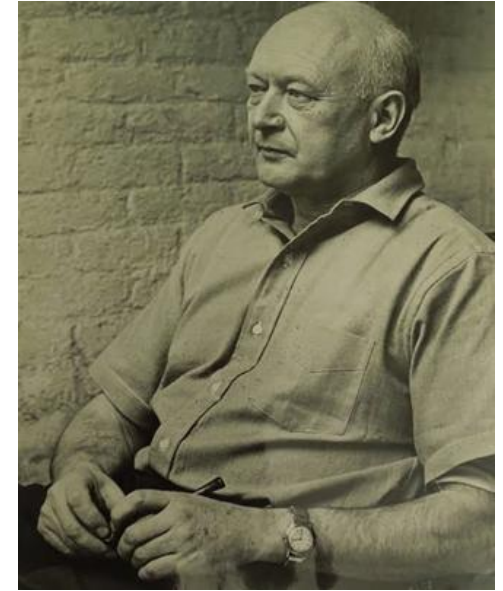


Διαφορετικός φαινότυπος

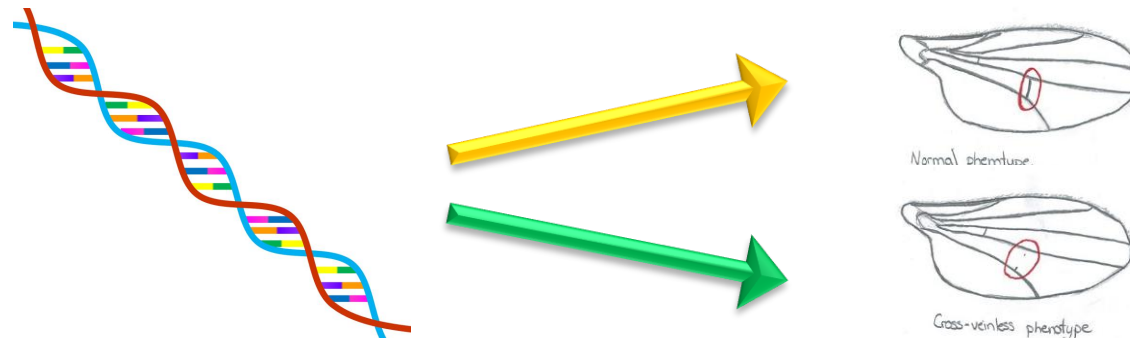


Τι είναι λοιπόν η ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ?

Ο όρος «**επιγενετική**» (epigenetics) πρωτοχρησιμοποιήθηκε από τον Conrad Hal Waddington το 1942 για να περιγράψει **αλλαγές που ΔΕΝ τροποποιούν την αλληλουχία βάσεων του DNA ΑΛΛΑ αλλάζουν τη λειτουργία του**. Στα τέλη του 1930, ο Waddington δημιούργησε μοντέλα σχετικά με το πως προϊόντα της γονιδιακής ρύθμισης θα προκαλούσαν αναπτυξιακά φαινόμενα. Συγκεκριμένα μελέτησε τους μηχανισμούς ανάπτυξης της *Drosophila* μέσω συστηματικής ανάλυσης μεταλλάξεων που επηρεάζουν την μορφολογία των πτερών (η έρευνα αυτή του έδωσε το βραβείο Nobel Ιατρικής το 1995). Σε μία πολύ δημιουργική περίοδο στα τέλη της δεκαετίας του 1930s, ανακάλυψε μεταλλάξεις που επηρέαζαν κυτταρικούς φαινοτύπους και έτσι έγραψε το πρώτο του σύγγραμμα, αυτό της Αναπτυξιακής Επιγενετικής.



Η επιγενετική αποτελεί τη γέφυρα μεταξύ γονοτύπου και φαινοτύπου, τροποποιώντας το τελικό προϊόν του γονιδίου χωρίς αλλαγή της ακολουθίας του DNA, προσφέροντας ένα είδος μεταγραφικού ελέγχου, που ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων.

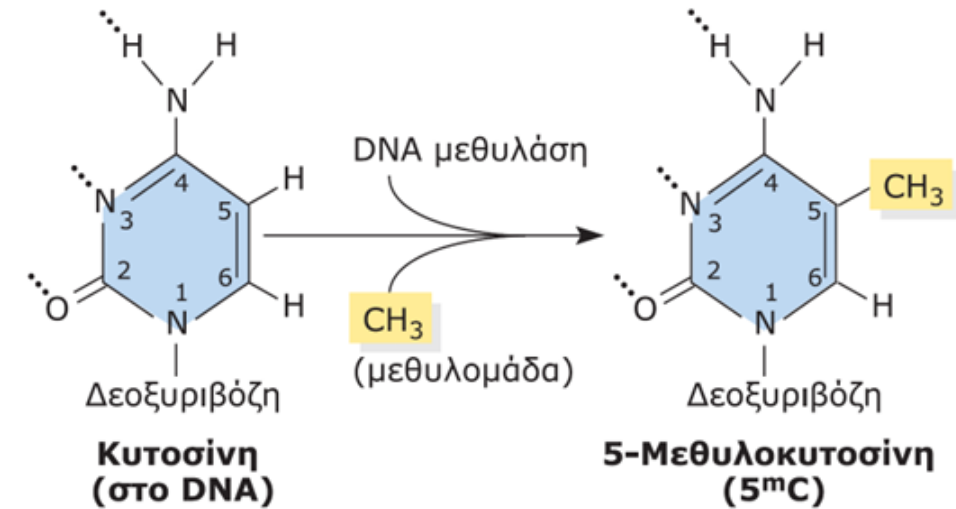


Τα εργαλεία της Επιγενετικής: Οι τρεις βασικοί μηχανισμοί

- Τρεις βασικοί επιγενετικοί μηχανισμοί, επηρεαζόμενοι από «περιβαλλοντικούς» παράγοντες, ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων:
 1. **Η μεθυλίωση του DNA**
 2. **Η τροποποίηση των ιστονών**
 3. **Τα μη κωδικοποιούντα RNAs (ncRNAs)**
- Η επιγενετική κατάσταση του γονιδιώματος (επιγονιδίωμα) **μεταβάλλεται δυναμικά** στα κύτταρα των διάφορων ιστών, σε αντίθεση με την ακολουθία του DNA που παραμένει σταθερή.
- Χρησιμοποιώντας ένα μεγάλο αριθμό ενζύμων σε συντονισμό μεταξύ τους, ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων και διαμορφώνει διαφορετικούς φαινοτύπους σε διαφορετικά κύτταρα.
- Το **επιγονιδίωμα κληρονομείται** από πρόγονο σε απόγονο αλλά είναι **αναστρέψιμο**.

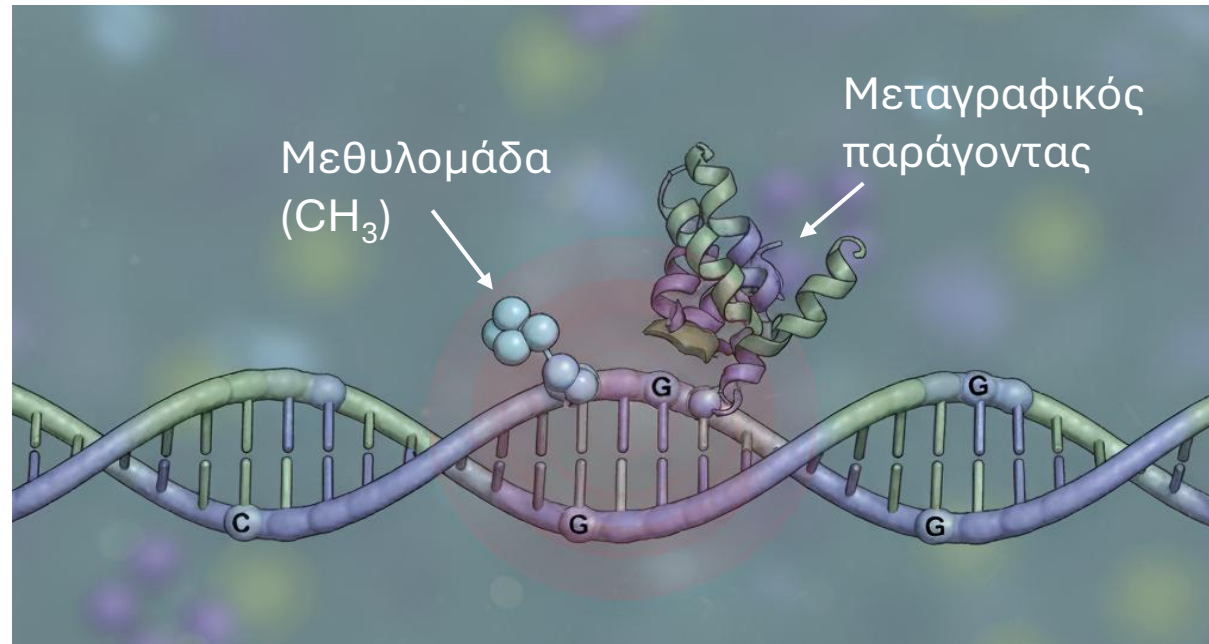
Η μεθυλίωση του DNA: Το κάλυμμα CH₃

- Ομοιοπολική προσθήκη μιας **μεθυλομάδας (CH₃)** στη θέση C-5 του πυριμιδινικού δακτυλίου της **κυτοσίνης**.
- Συμβαίνει είτε σε δινουκλεοτιδικές αλληλουχίες κυτοσίνης - γουανίνης (**CpGs**) είτε σε νησίδες CpG (περιοχές πλούσιες σε κυτοσίνη-γουανίνη).
- Ένζυμα της ομάδας **DNA μεθυλομεταφορασών** (DNMTs) δημιουργούν και διατηρούν τις μεθυλιώσεις.



Η μεθυλίωση του DNA: Το κάλυμμα CH₃

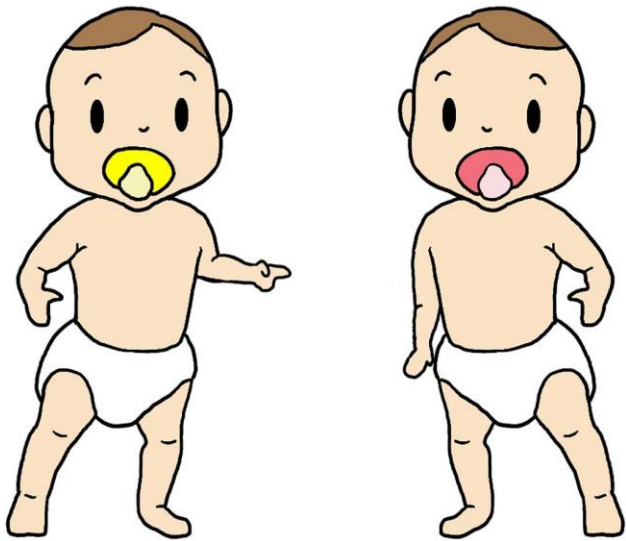
Αποτέλεσμα: Σίγαση/Αναστολή έκφρασης Γονιδίων. Οι μεθυλομάδες είτε αποτελούν φυσικά εμπόδια για τους παράγοντες μεταγραφής ή στρατολογούν κατασταλτικές πρωτεΐνες.



Διαδραματίζει βασικό ρόλο στην **κυτταρική διαφοροποίηση** και την **ανάπτυξη του εμβρύου**, στην **απενεργοποίηση του X χρωμοσώματος** και στο **μηχανισμό του γονιδιακού εντυπώματος** (φαινόμενο σύμφωνα με το οποίο έκφραση ενός γονιδίου ελέγχεται από το ποιος γονέας το κληροδότησε).

Το παράδειγμα των διδύμων (η συνέχεια)

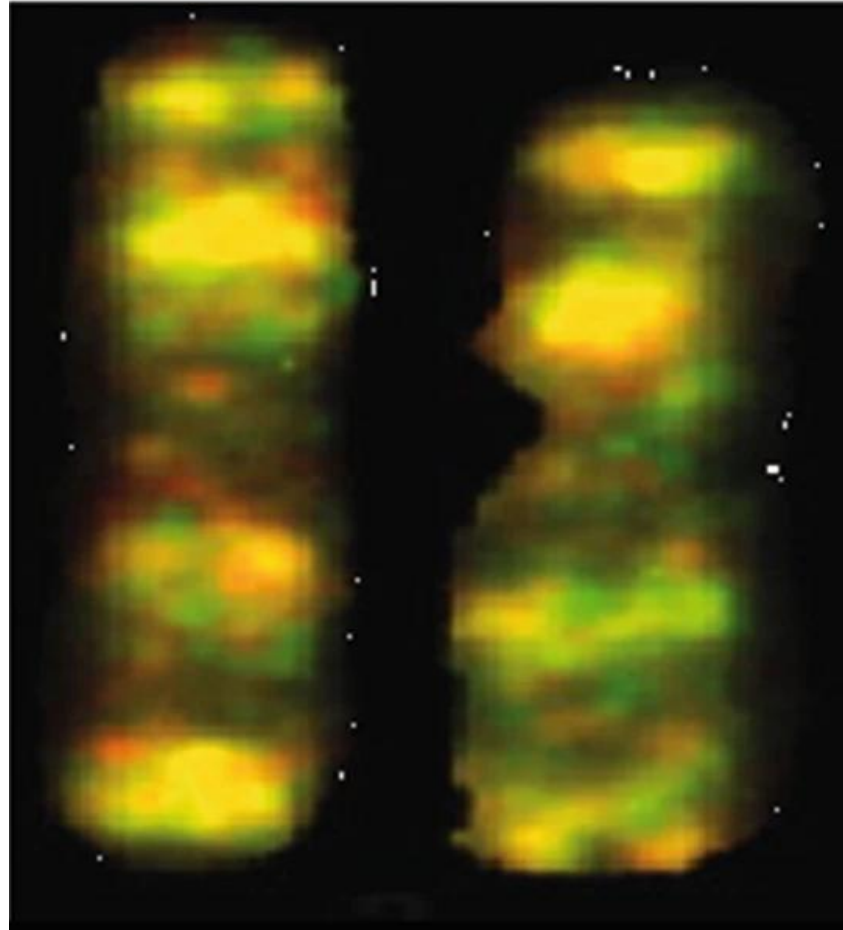
Μονοζυγωτικά δίδυμα



[Source](#) [License](#)

100% όμοιο DNA

3-year-old twins

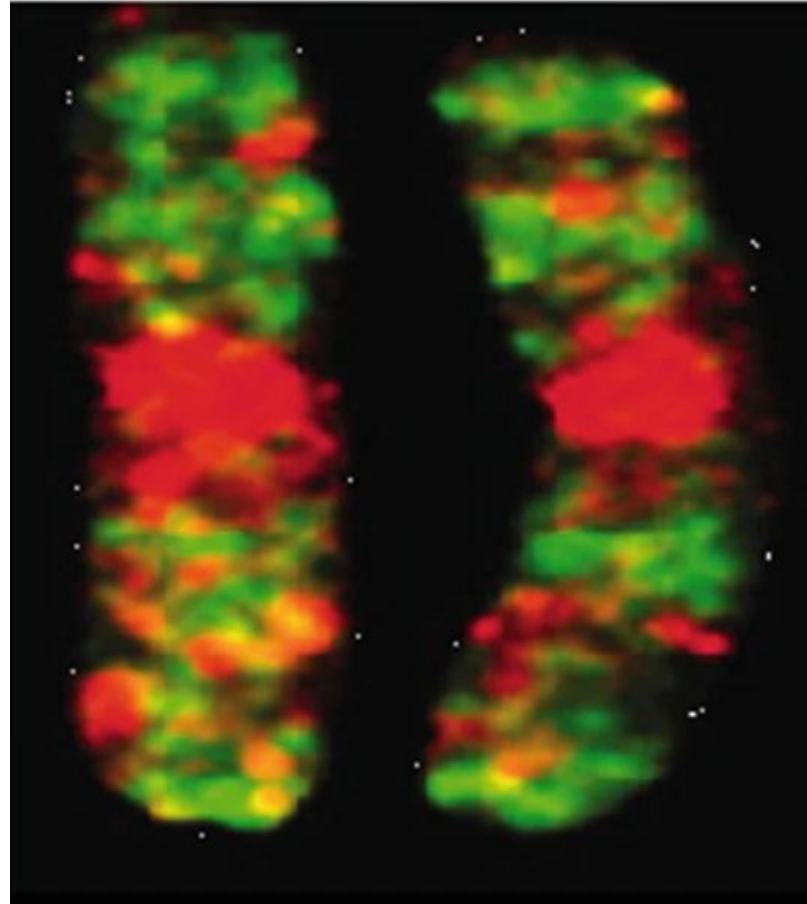


Παρατηρείται
παρόμοια κατανομή
μεθυλίωσης (κιτρινο
χρώμα)

Το παράδειγμα των διδύμων (η συνέχεια)



50-year-old twins



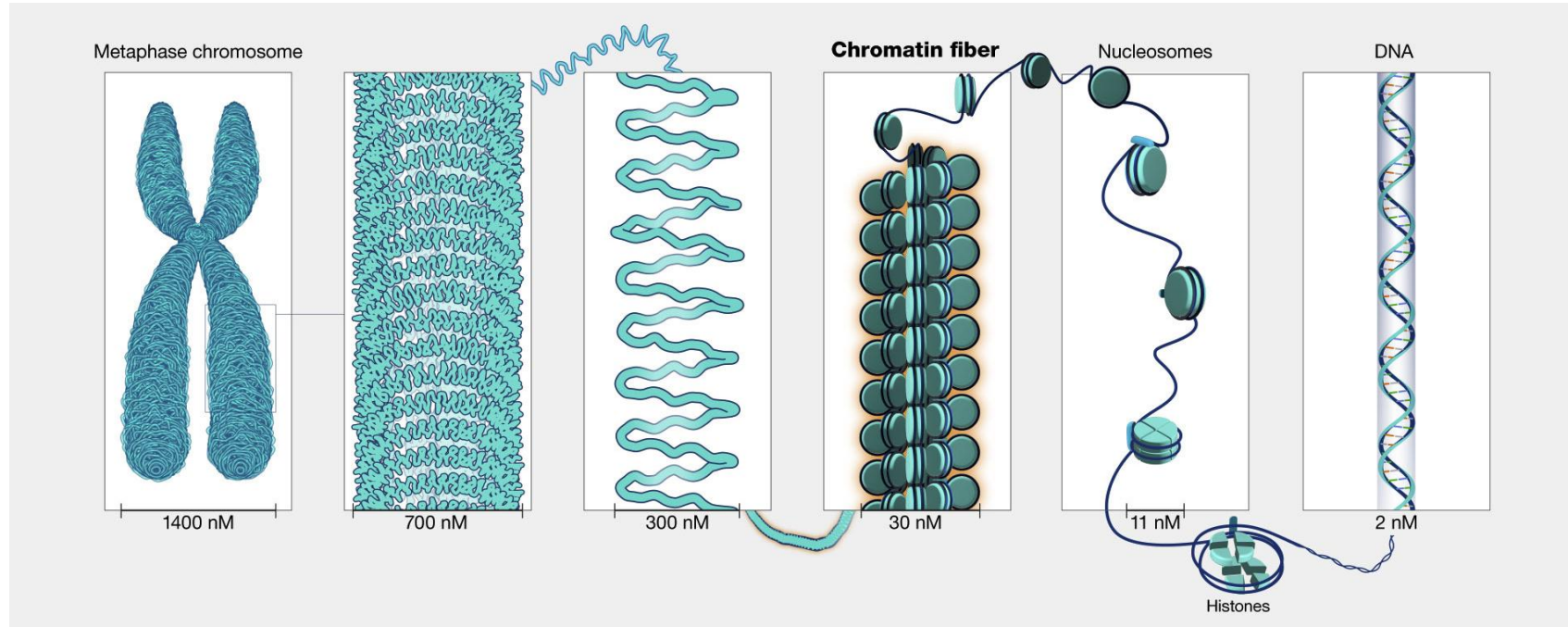
**Διαφορετική
κατανομή
μεθυλίωσης**
(πράσινο:
υπερμεθυλίωση,
κόκκινο:
υπομεθυλίωση,
κίτρινο:
κοκκινο+πράσινο
merge)

M.F. Fraga et al., *Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102 (30) 10604-10609, <https://doi.org/10.1073/pnas.0500398102> (2005).

Schwab, T.L., Hogenson, T.L. (2019). *Effect of Epigenetic Differences in Identical Twins*. In: Patel, V., Preedy, V. (eds) *Handbook of Nutrition, Diet, and Epigenetics*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-55530-0_65

Τροποποίηση ιστών: Προσβασιμότητα χρωματίνης

- Χρωματίνη: μείγμα DNA και πρωτεϊνών (ιστόνες στο μεγαλύτερο ποσοστό).

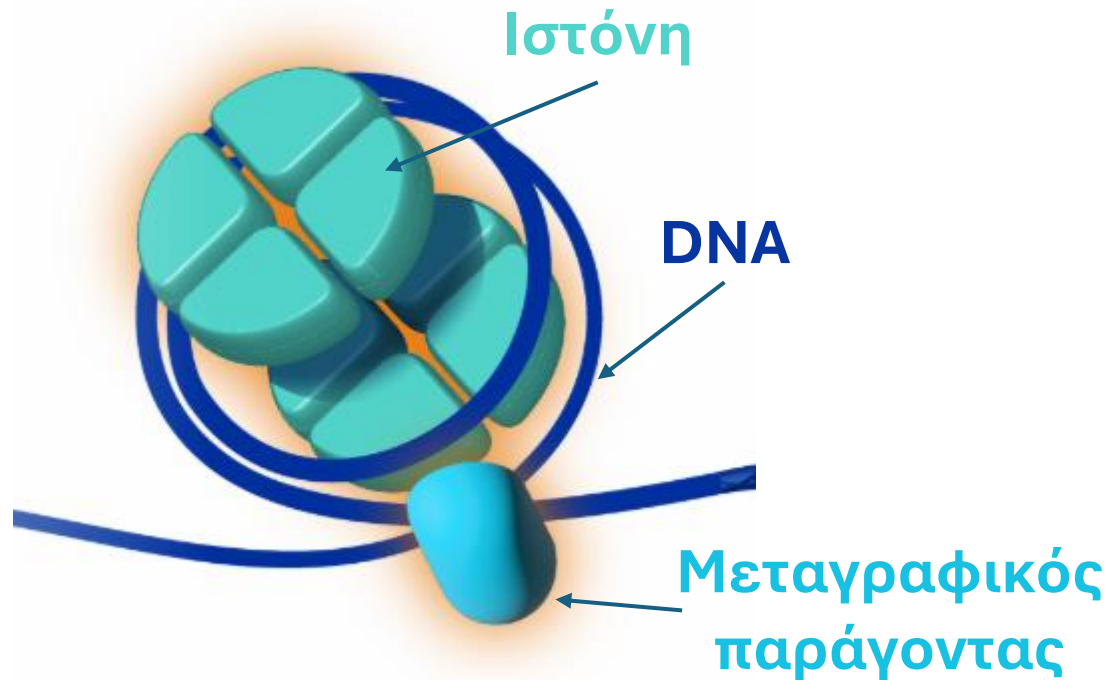


- Οι ιστόνες (H3, H4, H2A, H2B) «συσκευάζουν» την τεράστια ποσότητα DNA (>150cm) σε μια εξαιρετικά συμπαγή μορφή που μπορεί να χωρέσει στον πυρήνα του κυττάρου, τα χρωμοσώματα.
- Οι ιστόνες δημιουργούν ένα οκταμερές γύρω από το οποίο περιελίσσονται 147 ζεύγη βάσεων DNA δημιουργώντας έτσι το νουκλεόσωμα που είναι η βασική μονάδα οργάνωσης της χρωματίνης.

Τροποποίηση ιστών: Νουκλεόσωμα

Οι ιστόνες δημιουργούν ένα οκταμερές γύρω από το οποίο περιελίσσονται 147 ζεύγη βάσεων DNA δημιουργώντας το **νουκλεόσωμα** που είναι η βασική μονάδα οργάνωσης της χρωματίνης.

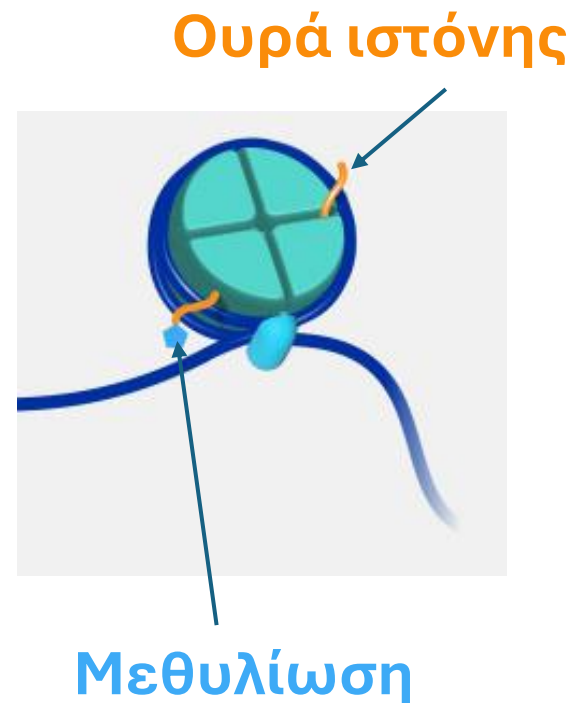
ΝΟΥΚΛΕΟΣΩΜΑ



Τροποποίηση ιστονών: Προσβασιμότητα χρωματίνης

Οι ιστόνες έχουν σημαντικό ρόλο στη λειτουργία της χρωματίνης. Κάθε τύπος ιστονών υποβάλλεται σε διαφορετικές μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις, συμπεριλαμβάνοντας κυρίως την **ακετυλίωση**, τη **μεθυλίωση** και τη **φωσφορυλίωση**.

Η ακετυλίωση και η μεθυλίωση συμβαίνουν στις **αμινοτελικές ουρές των ιστονών** με τη δράση των ενζύμων ακετυλομεταφοράσες - αποακετυλάσες και μεθυλομεταφοράσες αντίστοιχα.



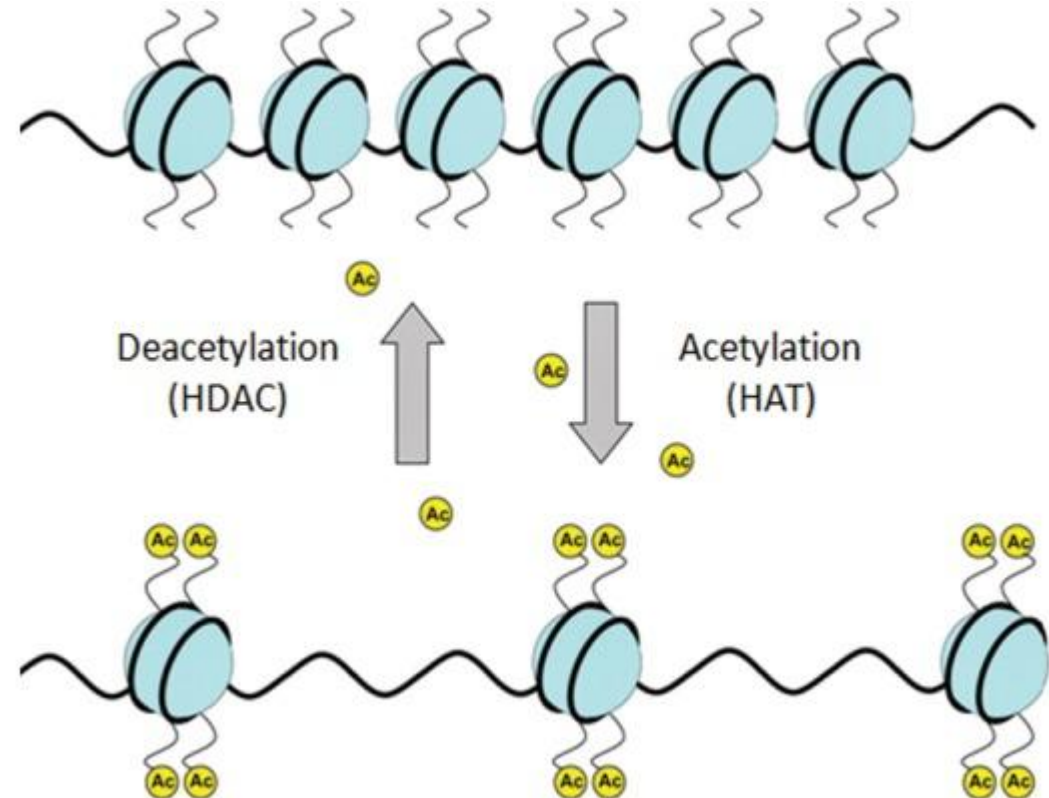
Τροποποίηση ιστονών: Ευχρωματίνη – Ετεροχρωματίνη

- Μεταβάλλοντας τη διάταξη της χρωματίνης, ρυθμίζεται η μεταγραφή των γονιδίων, είτε οδηγούμενη σε ενεργοποίηση ή σε αποσιώπηση.
- Ευχρωματίνη: ανοιχτή δομή χρωματίνης → ενεργός μεταγραφή
- Ετεροχρωματίνη: συμπαγής χρωματίνη → καταστολή μεταγραφής άρα και της γονιδιακής έκφρασης.

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ

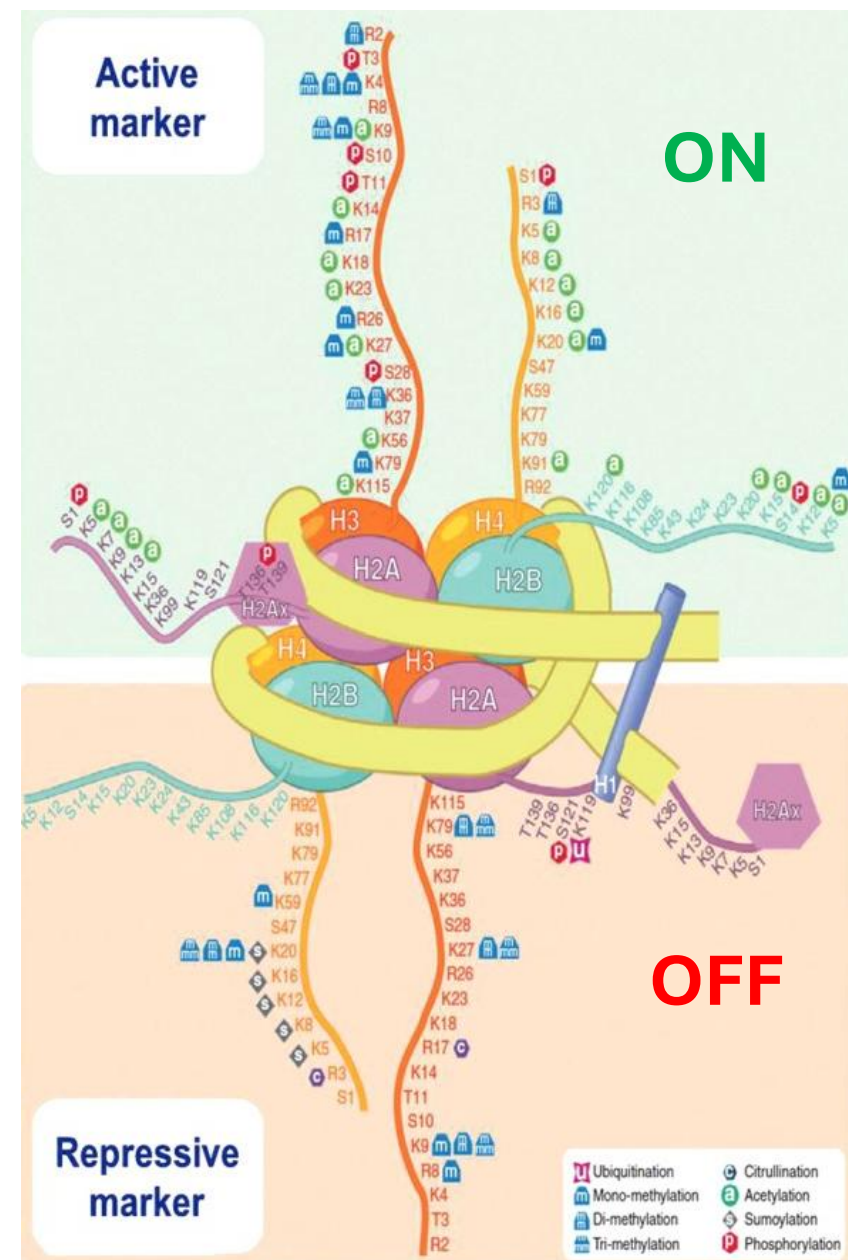
Προσθήκη ακετυλίου από
ακετυλοτρασφεράση (ακετυλίωση) →
μεταγραφική δραστηριότητα **ON**

Αφαίρεση ακετυλίου από
αποακετυλάση (αποακετυλίωση) →
μεταγραφική σιγή **OFF**



Τροποποίηση ιστονών: Ιστονικός κώδικας

- Η συμπύκνωση της χρωματίνης, εκτός από την καταστολή της γονιδιακής έκφρασης, **σταθεροποιεί τη δομή των χρωμοσωμάτων και καταστέλλει την κινητικότητα των μεταθετών στοιχείων.**
- Οι συνδυασμοί των τροποποιήσεων των ιστονών στο σύνολό τους συγκροτούν τον «**ιστονικό κώδικα**», που αντιστοιχεί στη δυναμικά μεταβαλλόμενη, μεταγραφικά ενεργή ή ανενεργή χρωματινική κατάσταση, που μεταβιβάζεται από το μητρικό κύτταρο στα θυγατρικά του.

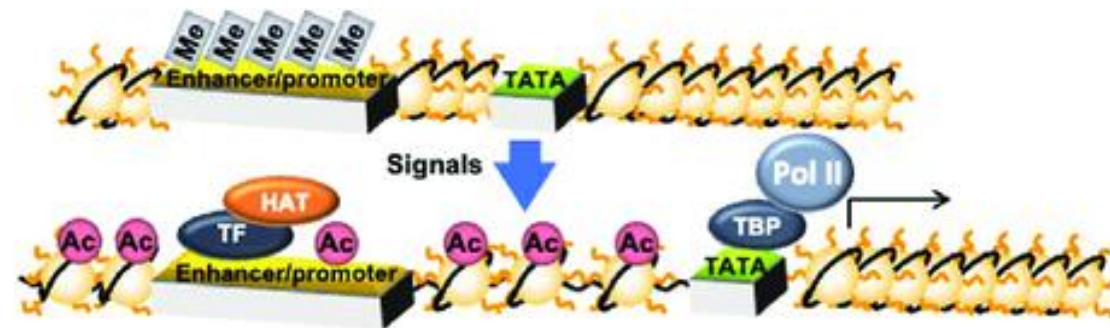


Kundu et al. (2020), Chapter Two - Principles of bi-sulfite conversion of DNA and methylation-specific PCR (MSP) in biological research, Editor(s): Trygve Tollefsbol, In Translational Epigenetics, Epigenetics Methods, Academic Press, Volume 18, Pages 17-36, ISSN 25425358, ISBN 9780128194140, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819414-0.00002-1>.

Τροποποίηση ιστονών: Παράδειγμα ιστονικού κώδικα

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΙΣΤΟΝΙΚΟΥ ΚΩΔΙΚΑ

1. Μεθυλίωση (Me) → εμποδίζει τους μεταγραφικούς παράγοντες να προσελεύσουν τον ενισχυτή/υποκινητή → Μεταγραφή **OFF**
2. Σηματοδότηση
3. Απομεθυλίωση + ακετυλίωση (Ac) → χαλαρώνει η δομή της χρωματίνης
4. Προσελκύονται οι μεταγραφικοί παράγοντες (TF) σε ενισχυτή/υποκινητή
5. Μεταγραφή **ON**

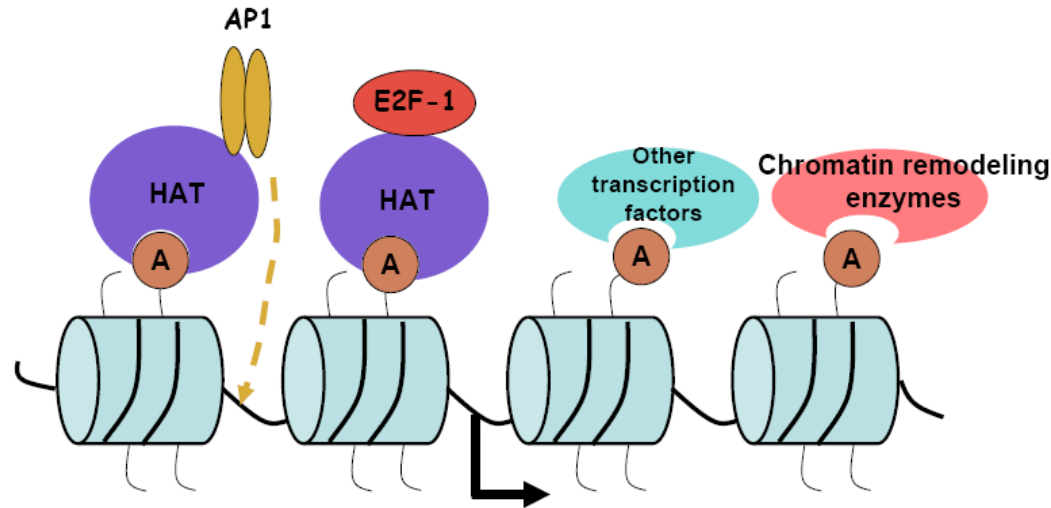


*ενισχυτής (enhancer): προσελκύει και συγκρατεί μεταγραφικούς παράγοντες (TF) ώστε να διατηρεί τη μεταγραφή ενεργή

*υποκινητής (promoter): κοντά στο γονίδιο, απαραίτητος για να εκκινήσει η μεταγραφή καθώς πάνω του προσδένεται η RNA πολυμεράση

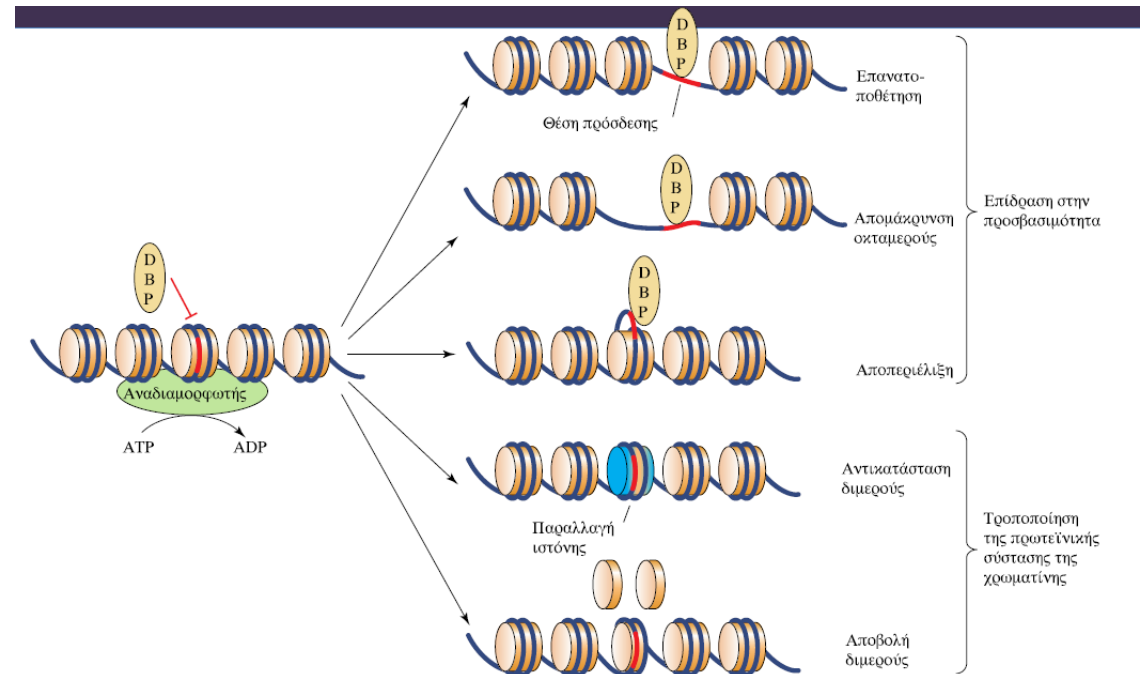
Τροποποίηση ιστονών: Ακετυλίωση

- Η ακετυλίωση των ιστονών διευκολύνει την **προσέλκυση μεταγραφικών παραγόντων**:
 1. Στην περιοχή του ενισχυτή
 2. Στην περιοχή του υποκινητή μέσω άλλων πρωτεϊνών που προσδένονται στο DNA (DPs:DNA-binding proteins)
 3. Απευθείας στην περιοχή του υποκινητή
- Η ακετυλίωση των ιστονών διευκολύνει την **περαιτέρω χαλάρωση της χρωματίνης** μέσω ειδικών ενζύμων στη μεταγραφική περιοχή



Τροποποίηση ιστών: Αναδιαμόρφωση χρωματίνης

- **Αναδιαμόρφωση χρωματίνης:** Η ενεργειακά εξαρτώμενη αναδιοργάνωση των νουκλεοσωμάτων που συμβαίνει σε συνδυασμό με την μεταγραφική δραστηριότητα.
- Υπάρχουν πολυάριθμα **σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης χρωματίνης εξαρτώμενα από ATP** (χρησιμοποιούν ενέργεια που παρέχεται από την υδρόλυση του ATP σε ADP).
- Όλα τα σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης περιέχουν μια καταλυτική υπομονάδα ATPάσης.
- Τα σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης μπορούν να **αλλάξουν ή να μετατοπίσουν τα νουκλεοσώματα**.
- Ορισμένα σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης μπορούν να **ανταλλάξουν μια ιστόνη** με μια άλλη σε ένα νουκλεόσωμα.

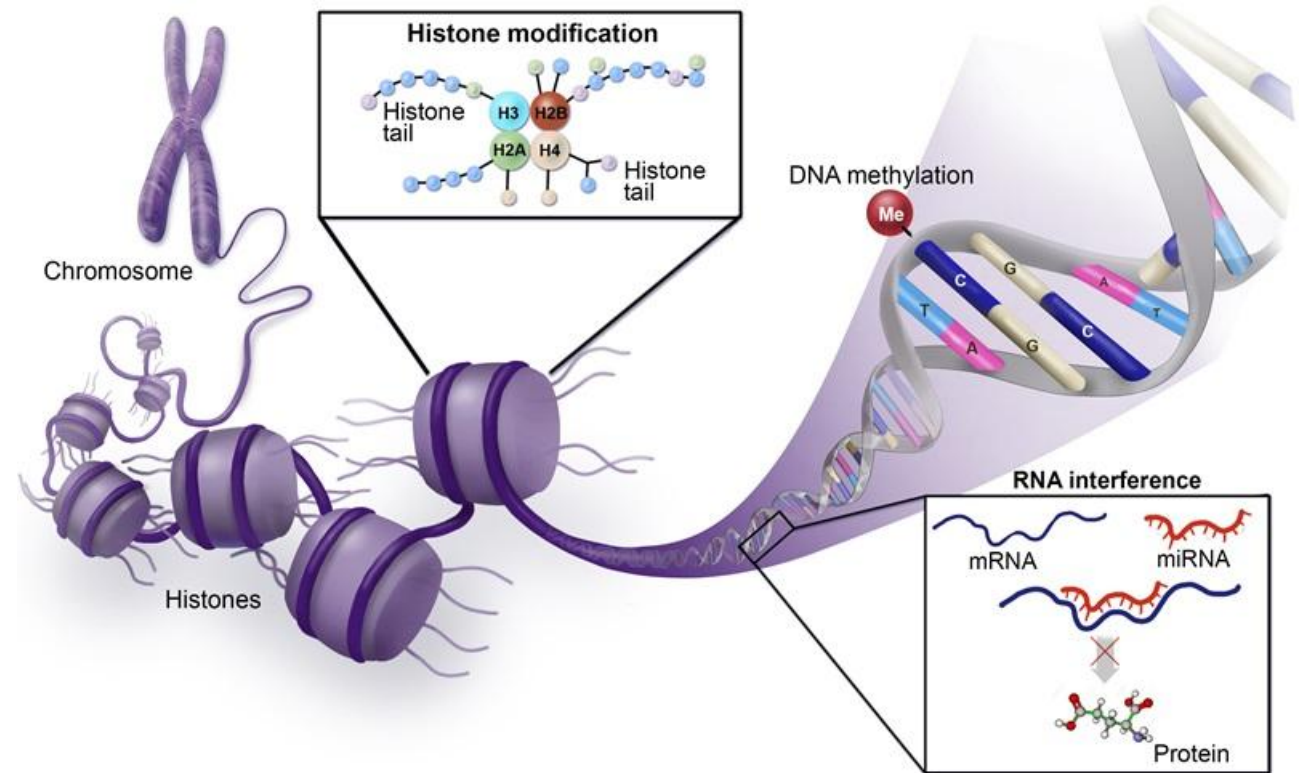


Μη κωδικοποιούμενα (non coding) RNAs (ncRNAs): Μικρο-ρύθμιση μετά-μεταγραφής

ΕΡΩΤΗΜΑ	ΑΠΑΝΤΗΣΗ	ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑ
Τι είναι?	Μόρια που δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνες, αλλά ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων.	Στα ανθρώπινα ευκαρυωτικά κύτταρα, το περισσότερο DNA (μέχρι 98%) είναι "παρεμβαλλόμενο" και δεν κωδικοποιεί πρωτεΐνες.
Ποια είναι η λειτουργία του μεταγραφόμενου RNA από αυτές τις αλληλουχίες?	Το RNA αυτό δεσμεύεται σε άλλα mRNA και επηρεάζει τη μετάφραση τους ή δεσμεύεται σε πρωτεΐνες που επηρεάζουν τη γονιδιακή μεταγραφή.	Τα είδη RNA που δρουν παρεμβατικά είναι τα microRNAs (miRNAs), τα small interference RNAs (siRNAs) και τα long non coding RNAs (lncRNAs).
Πως λέγεται ο βιολογικός μηχανισμός?	Παρεμβολή RNA [RNA interference (RNAi)]	Κατά κύριο λόγο, ο μηχανισμός αυτός προωθεί τη σίγαση της γονιδιακής έκφρασης.

Μη κωδικοποιούμενα RNAs: Χαρακτηριστικά

- **Λειτουργικά** μόρια RNA - όμως **δε μεταφράζονται** σε πρωτεΐνη.
- «Παρεμβάλλονται» στη γονιδιακή έκφραση
- Η μεθυλίωση του DNA, η τροποποίηση των ιστονών και η **παρεμβολή RNA (RNAi)** λειτουργούν συνεργατικά αλλά και σε συμφωνία με τους περιβαλλοντικούς παράγοντες, με σκοπό την έκφραση ή τη σιγή της γενετικής πληροφορίας.
- Ο μηχανισμός αυτός φαίνεται να έχει προέλθει από πρώιμους αντικοούς μηχανισμούς ανοσίας και παίζει σημαντικό ρόλο στην γονιδιακή ρύθμιση, εξελικτική βιολογία και διατήρηση του γονιδιώματος.



Σίγαση γονιδιακής έκφρασης δε συνεπάγεται μειονέκτημα

GROUP 1

Σκεφτείτε μια περίπτωση κατά την οποία η σίγαση της έκφρασης ενός γονιδίου μπορεί να έχει θετικό αποτέλεσμα

GROUP 2

Σκεφτείτε μια περίπτωση κατά την οποία η σίγαση της έκφρασης ενός γονιδίου μπορεί να έχει αρνητικό αποτέλεσμα

Σίγαση γονιδιακής έκφρασης δε συνεπάγεται μειονέκτημα

GROUP 1

Σκεφτείτε μια περίπτωση κατά την οποία η σίγαση της έκφρασης ενός γονιδίου μπορεί να έχει θετικό αποτέλεσμα

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ

1. Ογκογονίδια
 2. Λιποπρωτεΐνη α
 3. mHTT (νόσος Χάντινγκτον)
 4. Πρωτεΐνες οξειδωτικού στρες
-

GROUP 2

Σκεφτείτε μια περίπτωση κατά την οποία η σίγαση της έκφρασης ενός γονιδίου μπορεί να έχει αρνητικό αποτέλεσμα

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ

1. Ογκοκατασταλτικά γονίδια
 2. Απολιποπρωτεΐνη A-I
 3. Πρωτεΐνες που συμβάλουν στην αποικοδόμηση συσσωματωμάτων
 4. Αντιοξειδωτικά ένζυμα
-

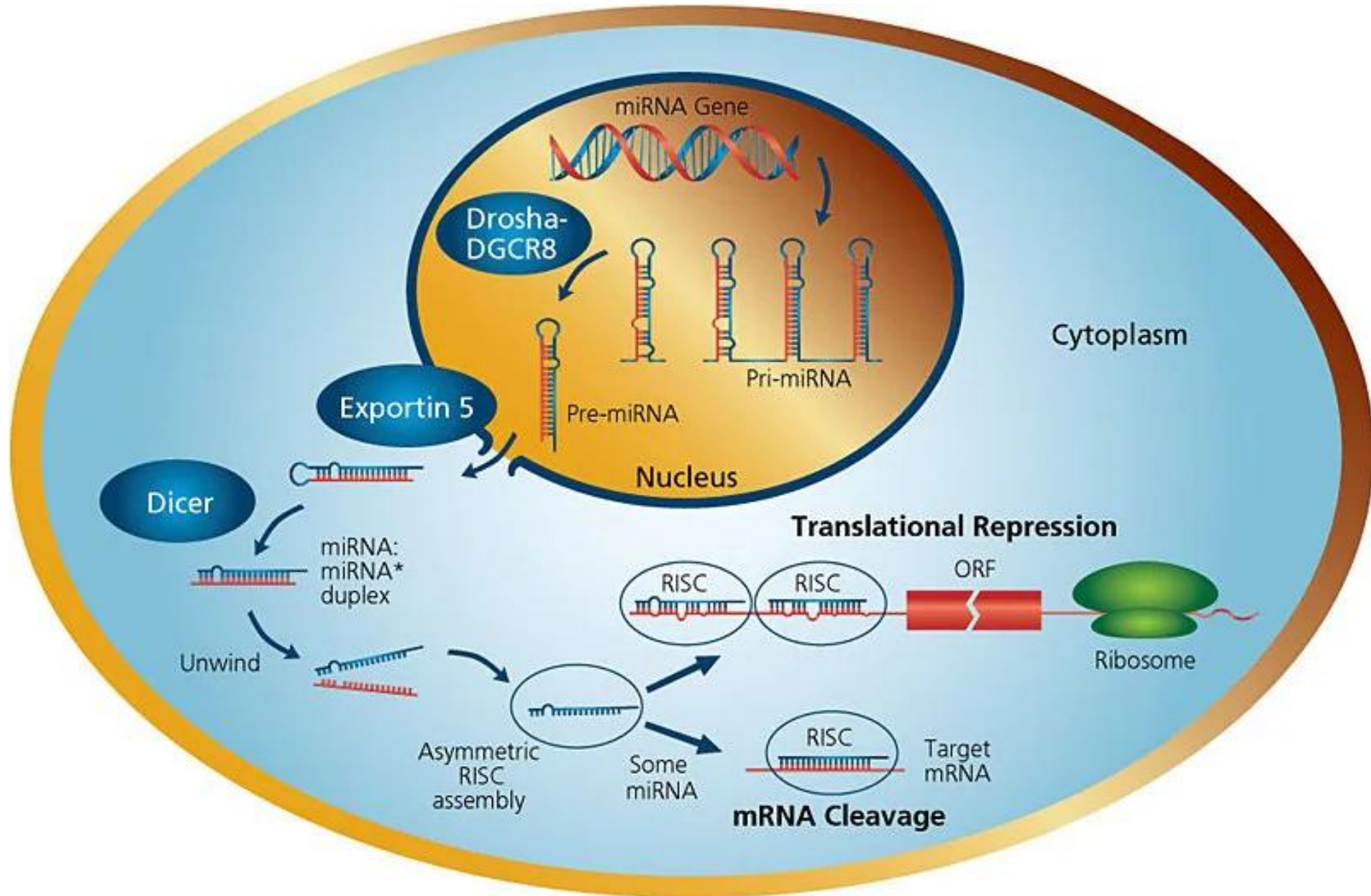
Σίγαση γονιδιακής έκφρασης δε συνεπάγεται
μειονέκτημα

**Η ΟΡΘΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΕΙΝΑΙ ΘΕΜΑ
ΙΣΟΡΡΟΠΗΜΕΝΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΡΥΘΜΙΣΗΣ**

Μη κωδικοποιούμενα RNAs: miRNAs

- Μικρά (~20 nt) ρυθμιστικά μόρια μονόκλωνης αλυσίδας (προερχόμενα από ώριμη δίκλωνη).
- **Μηχανισμός Δράσης:** Πρόσδεση σε ένα σύμπλοκο πρωτεϊνών (RISC: RNA-Induced Silencing Complex) → Οδηγούν το RISC στην 3' UTR περιοχή στα mRNA στόχους → δημιουργούν δίκλωνη RNA αλληλουχία (miRNA-mRNA στοχος) – όχι πάντα πλήρως συμπληρωματική → καταστολή μετάφρασης (μετα-μεταγραφικά).
- Μπορεί να οδηγήσει **και σε αποικοδόμηση** του mRNA.
- **Ρόλος**
 - Κρίσιμοι ρυθμιστές φυσικών βιολογικών διεργασιών (π.χ., ανάπτυξη, διαφοροποίηση, απόπτωση).
 - Μέσω της μείωσης, μεταφέρουν την επιγενετική πληροφορία στο ζυγωτό και συνεπώς μπορούν να τη μεταβιβάσουν στις επόμενες γενιές.
 - Τα 800 με 1000 μικρομόρια RNA (miRNAs), που έχουν μέχρι σήμερα αναγνωριστεί, ρυθμίζουν περίπου το ένα τρίτο του ανθρώπινου μεταγραφώματος (transcriptome)

Μη κωδικοποιούμενα RNAs: miRNAs-Μηχανισμός δράσης



Μη κωδικοποιούμενα RNAs: miRNAs-Παράδειγμα

- 10 γονιδιακοί τόποι που σχετίζονται με το ύψος
- Αρκετά από αυτά τα γονίδια, 5 από τα 16 (**31%**) αποτελούν θέσεις στόχους για τα **let-7 miRNAs**, σε σχέση με το **2%** των γονιδίων στο ανθρώπινο γονιδίωμα.
- Τα let-7 miRNAs μεταγράφονται ως πρόδρομα 70 νουκλεοτιδίων, μεταφέρονται στο κυτταρόπλασμα όπου με την επίδραση του ενζύμου Dicer ωριμάζουν σε 22 νουκλεοτίδια και προκαλούν αποσιώπηση της έκφρασης μέσω της δέσμευσης τους στο 3' UTRs των mRNAs

Table 1 Summary association results for 29 SNPs genotyped in the follow-up panels

Chromosome (position)	SNP	MAF (allele) ^a	Meta-analysis P beta (s.e.m.) ^b	Meta-analysis heterogeneity I ^{2c} (%)	Follow-up P beta (s.e.m.) ^b	Follow-up heterogeneity I ^{2c} (%)	Combined P beta (s.e.m.) ^d	USHT P OR (95% CI) ^e	Nearby genes ^f
Validated associations (combined $P < 5 \times 10^{-7}$)									
3 (142588268)	rs724016	0.48 (G)	5.0×10^{-12} 0.461 (0.070)	0	2.5×10^{-11} 0.307 (0.051)	71	8.3×10^{-22} 0.365 (0.038)	7.8×10^{-8} 1.4 (1.2–1.6)	ZBTB38
12 (64644614)	rs1042725	0.49 (T)	2.6×10^{-11} -0.403 (0.070)	8	1.7×10^{-10} -0.493 (0.077)	0	2.7×10^{-20} -0.484 (0.051)	4.2×10^{-6} 0.8 (0.7–0.9)	HMGA2
6 (142745570)	rs4896582	0.27 (A)	3.2×10^{-8} -0.397 (0.077)	0	6.3×10^{-12} -0.365 (0.058)	24	2.4×10^{-18} -0.378 (0.051)	2.2×10^{-5} 0.8 (0.7–0.9)	GPR126
6 (26341366)	rs10946808	0.28 (G)	3.3×10^{-8} -0.448 (0.083)	40	1.9×10^{-10} -0.314 (0.058)	63	3.8×10^{-17} -0.358 (0.045)	3.4×10^{-8} 0.7 (0.7–0.8)	HIST1H1D
20 (33370575)	rs6060369	0.36 (C)	1.9×10^{-10} 0.454 (0.077)	0	1.3×10^{-7} 0.410 (0.077)	0	1.4×10^{-16} 0.435 (0.051)	0.012 1.2 (1.0–1.3)	GDF5-UQC
4 (146007626)	rs1492820	0.48 (G)	3.6×10^{-8} -0.435 (0.077)	0	3.9×10^{-5} -0.218 (0.051)	0	1.2×10^{-11} -0.288 (0.038)	0.002 0.8 (0.7–0.9)	HHIP
14 (91529711)	rs8007661	0.30 (T)	8.9×10^{-8} -0.486 (0.090)	0	0.0015 -0.326 (0.102)	n.a.	5.5×10^{-10} -0.416 (0.064)	0.64 1.0 (0.9–1.1)	TRIP11-ATXN3
6 (105514355)	rs314277	0.13 (A)	5.9×10^{-9} 0.608 (0.109)	0	0.035 0.230 (0.102)	0	1.1×10^{-8} 0.410 (0.077)	0.26 1.1 (0.9–1.3)	LIN28B
19 (2121954)	rs12986413	0.45 (T)	2.0×10^{-5} 0.333 (0.077)	23	3.7×10^{-4} 0.275 (0.077)	60	2.9×10^{-8} 0.307 (0.051)	0.20 1.1 (1.0–1.2)	DOT1L
15 (82077496)	rs2562784	0.17 (G)	2.9×10^{-5} 0.307 (0.083)	3	5.5×10^{-4} 0.397 (0.115)	n.a.	6.4×10^{-8} 0.339 (0.064)	0.28 1.1 (1.0–1.2)	SH3GL3-ADAMTSL3
8 (57318152)	rs9650315	0.13 (T)	9.6×10^{-6} -0.474 (0.102)	46	0.010 -0.352 (0.134)	26	3.8×10^{-7} -0.429 (0.083)	9.0×10^{-6} 0.7 (0.6–0.8)	CHCHD7-RDHE2
7 (91901556)	rs2040494	0.50 (C)	4.8×10^{-5} -0.288 (0.077)	29	0.0020 -0.237 (0.077)	0	3.8×10^{-7} -0.262 (0.051)	0.18 0.9 (0.8–1.0)	CDK6

Μη κωδικοποιούμενα RNAs: siRNAs

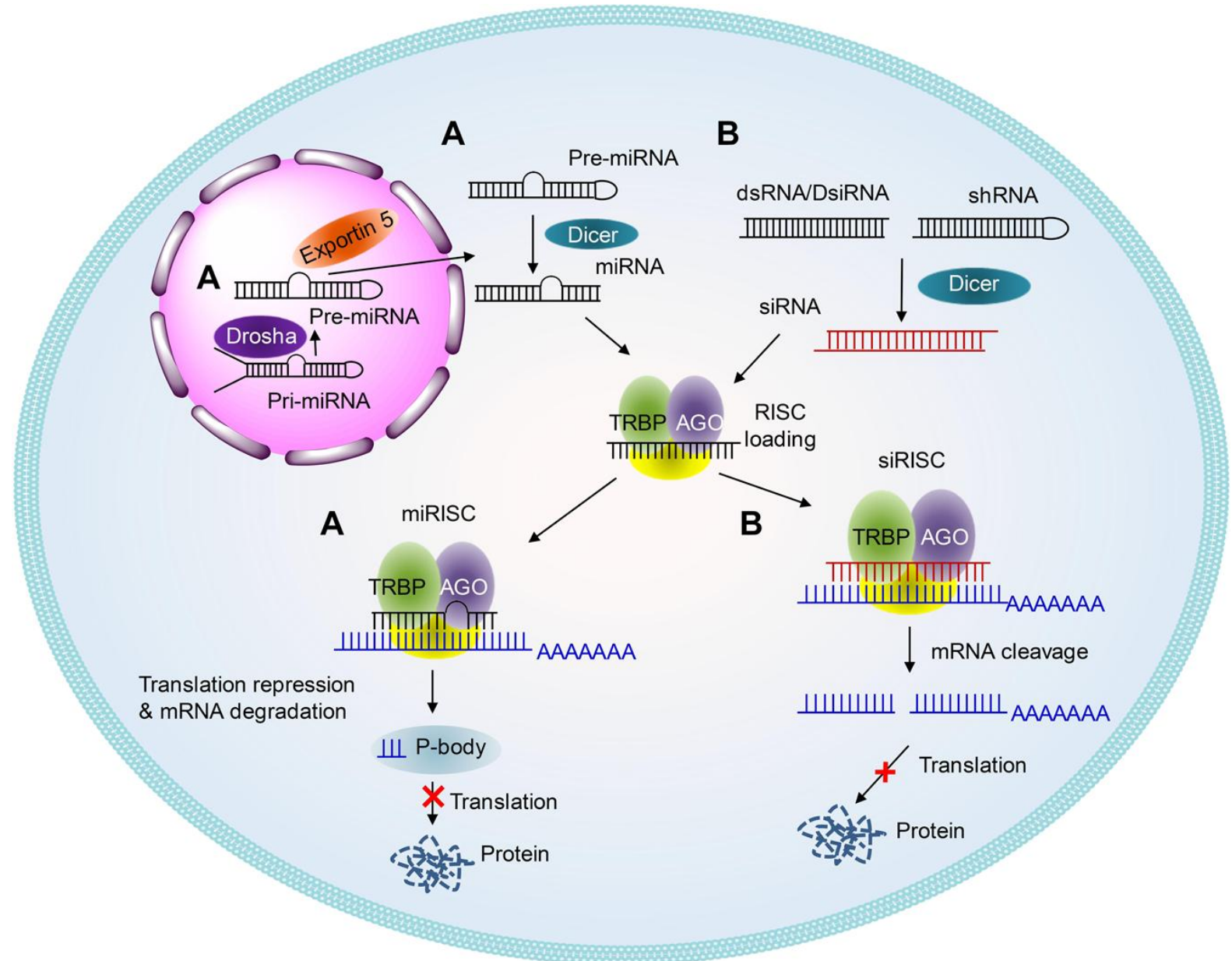
- Μικρά (~20 nt) δίκλωνης αλυσίδας μόρια RNA.
- Μηχανισμός Δράσης: Πρόσδεση στο σύμπλοκο RISC (RNA-Induced Silencing Complex) → πλήρη συμπληρωματικότητα siRNA με mRNA → αποικοδόμηση mRNA → οριστική καταστολή μετάφρασης.
- Λειτουργία: Καταστολή μετάφρασης μέσω **αποικοδόμησής** του mRNA.
- Εφαρμογή: Συχνά χρησιμοποιούνται ως ισχυρό εργαλείο σε εργαστηριακές μελέτες για τη σίγαση συγκεκριμένων γονιδίων ('Gene Knockdown').

ΠΟΛΥ ΠΑΡΟΜΟΙΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΛΛΑ ΥΠΑΡΧΕΙ ΔΙΑΦΟΡΑ

siRNA	VS	miRNA
Το siRNA αποικοδομεί το mRNA στόχο, άρα το mRNA δε μπορεί να ξαναχρησιμοποιηθεί		Το miRNA υπό το κατάλληλο «σήμα» μπορεί να αποχωρήσει μαζί με το σύμπλοκο RISC και να εκκινήσει η μετάφραση του mRNA κανονικά.

Μη κωδικοποιούμενα RNAs: siRNAs-Μηχανισμός δράσης

Το δίκλωνο RNA αποικοδομείται (με δαπάνη ATP) από το ένζυμο dicer παράγοντας ολιγονουκλεοτίδια μήκους 21-23 βάσεων. Αυτά τα μικρά τμήματα RNA είναι τα siRNA. Δημιουργούνται με αποκοπές στα 3' άκρα ενός μεγαλύτερου δίκλωνου RNA και προκύπτουν siRNA θραύσματα, (δίκλινα) με ανισοτελή άκρα μήκους 2 βάσεων.

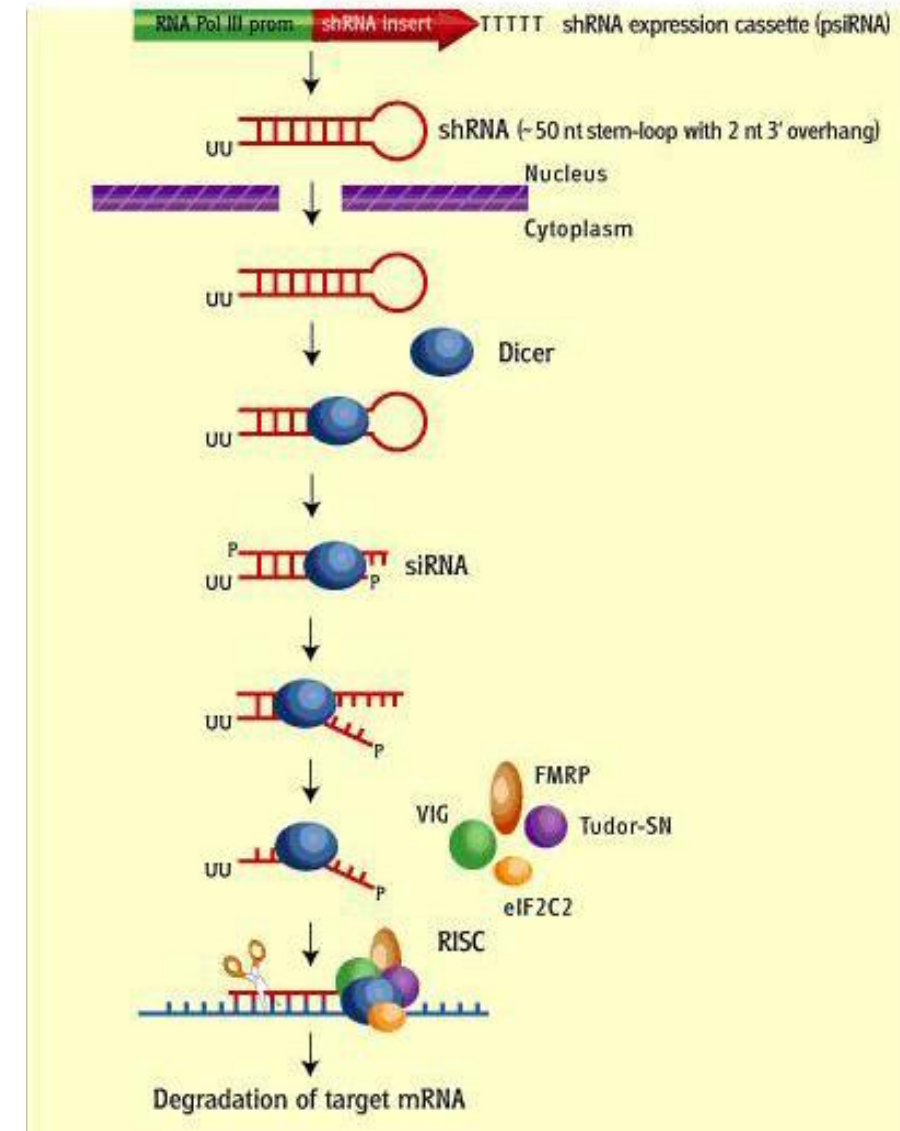


Μη κωδικοποιούμενα RNAs: siRNAs-Τεχνολογία

Η τεχνολογία siRNA χρησιμοποιείται και εξωγενώς για την σίγαση γονιδίων:

- Στη **βασική έρευνα** για τη διερεύνηση μονοπατιών σηματοδότησης (συνθετικό, μέσω νανοσωματιδίων, πλασμιδιακό ή ιικό siRNA)
- Στην **ιατρική** για τη θεραπεία χρόνιων νοσημάτων μέσω σίγασης γονιδίων (μέσω νανοσωματιδίων ή ιικό siRNA) ή για τη θεραπεία ιικών μολύνσεων (μέσω νανοσωματιδίων) π.χ. Ebola

Γονιδιακή αποσιώπηση με RNAi σε κύτταρα θηλαστικών, χρησιμοποιώντας shRNA



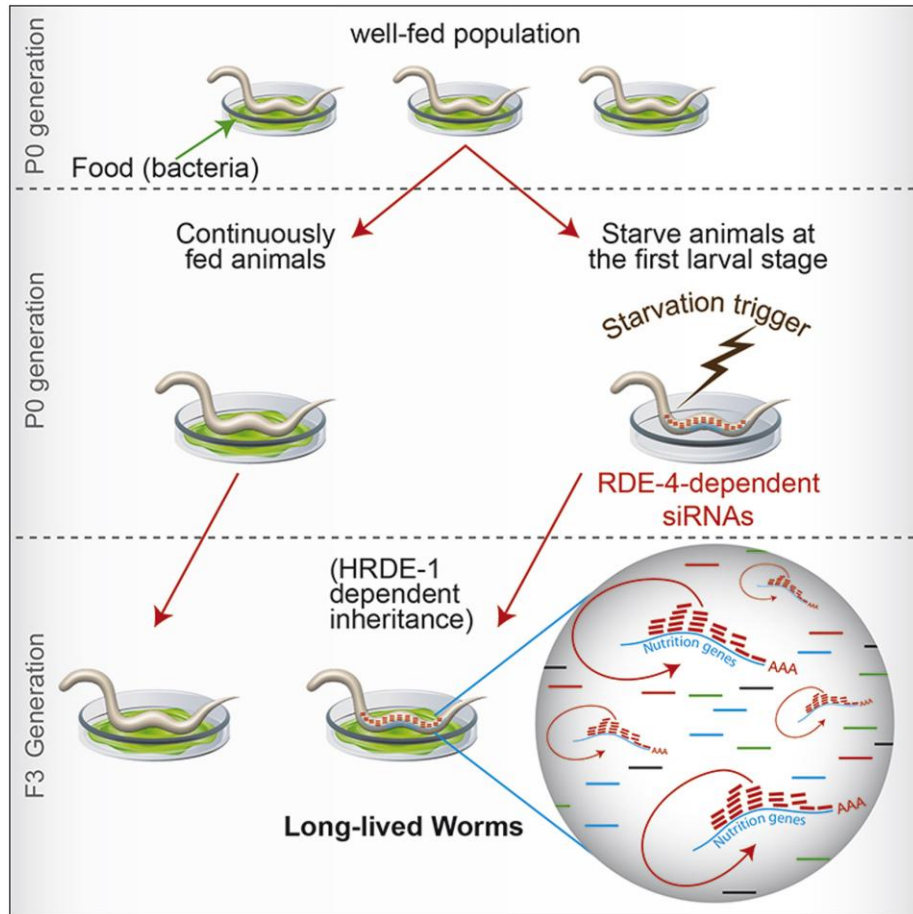
Μη κωδικοποιούμενα RNAs: siRNAs–Παράδειγμα

Η τεχνολογία siRNA χρησιμοποιήθηκε για να προσδιορίσει τις λειτουργίες των προϊόντων γονιδίων στο νηματώδη σκώληκα *C. elegans* :

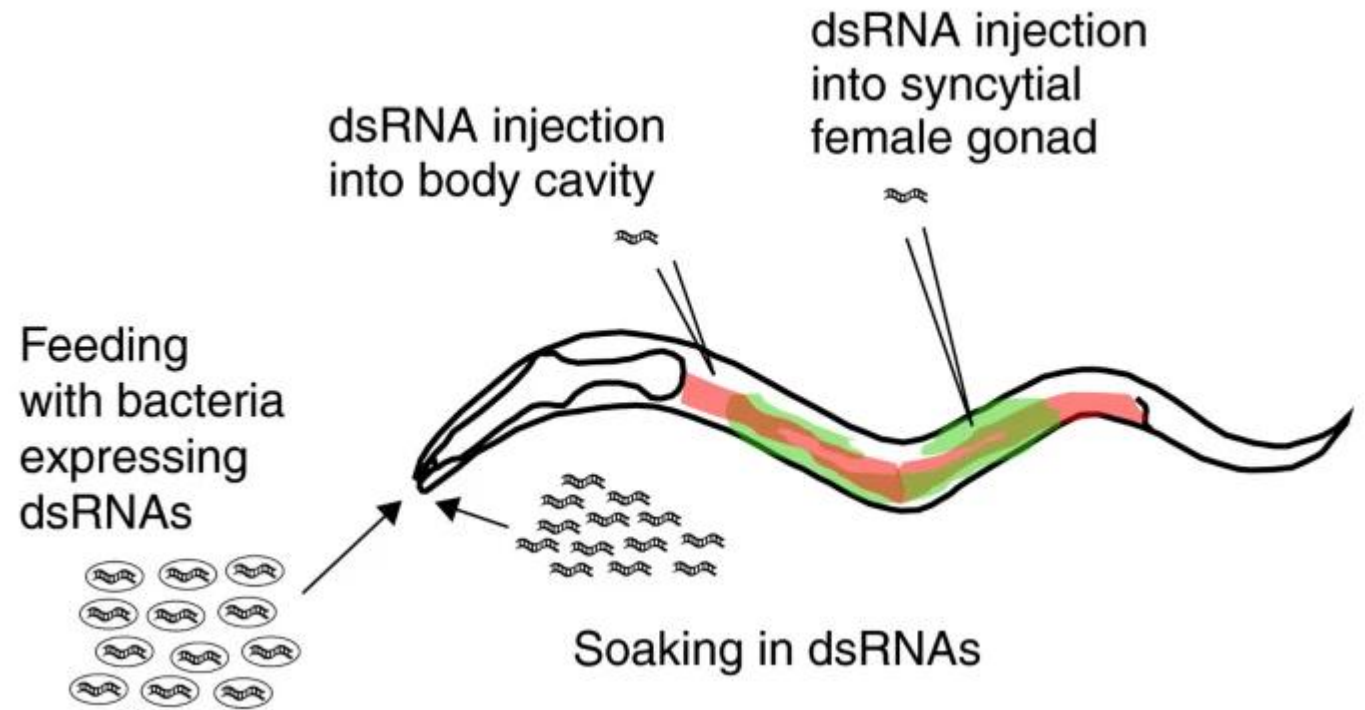
- ~20,000 γονίδια που κωδικοποιούν αντίστοιχες πρωτεΐνες.
- Τροφή *C. elegans*: βακτήρια *E. Coli*, τα οποία είχαν μετασχηματιστεί με πλασμιδιακό DNA σχεδιασμένο να παράγει dsRNA.
- Κατά τη μεταγραφή μία από τις αλυσίδες ήταν συμπληρωματικές, στις αλληλουχίες του mRNA του σκώληκα.
- 17,000 διαφορετικά dsRNA κωδικοποιημένα γονίδια κατασκευάστηκαν και χρησιμοποιήθηκαν για να καταστείλουν τη γονιδιακή έκφραση (σχηματίζοντας σύμπλοκα dsRNA από το mRNA) – screening → βιβλιοθήκη γονιδιώματος-λειτουργιών

Μη κωδικοποιούμενα RNAs: siRNAs-Παράδειγμα

Ενδογενές siRNA



Εξωγενές siRNA

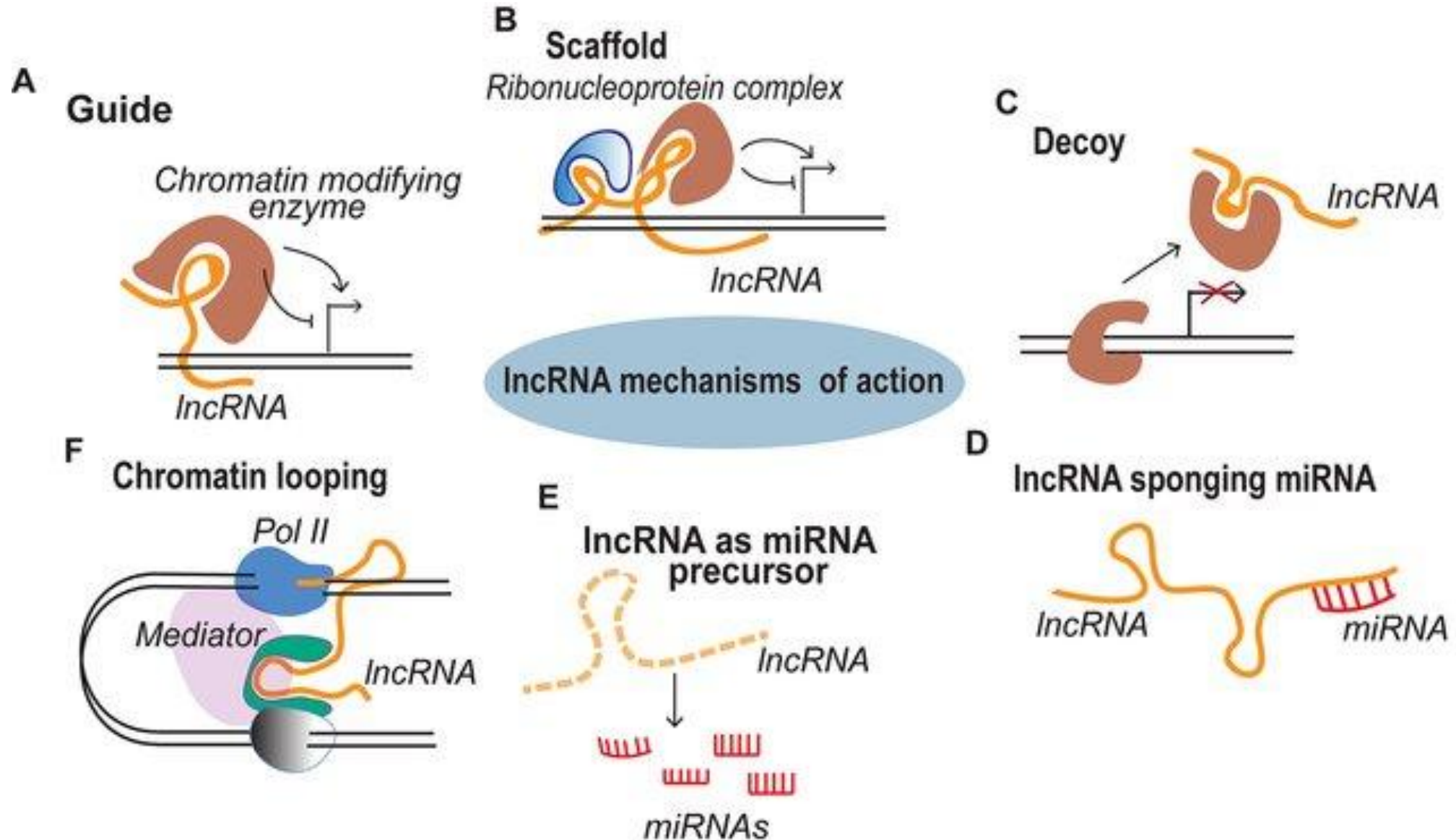


Μη κωδικοποιούμενα RNAs: lncRNAs

Τα μακρά μη κωδικοποιητικά RNA (lncRNAs) ανήκουν στην ευρύτερη κατηγορία επιγενετικών μηχανισμών και εν μέρει στην παρεμβολή RNA (RNAi)

- Χαρακτηριστικά: Πάνω από 200 νουκλεοτίδια σε μήκος. Έχουν δομή παρόμοια με τα mRNA (καπάκι 5', ουρά poly-A).
- Ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση σε όλα τα επίπεδα (μεταγραφικά, μετα-μεταγραφικά και μετα-μεταφραστικά)
- Μερικές από τις λειτουργίες:
 - Πρόγονο μόριο για τα miRNA
 - Φέρουν πρωτεϊνικά σύμπλοκα (π.χ., ένζυμα τροποποίησης ιστονών) σε συγκεκριμένες θέσεις του DNA → μεθυλίωση ιστονών.
 - Κατευθύνουν ένζυμα για σίγαση γονιδίων (π.χ., eIF4E και eIF4G)
 - Δεσμεύουν παράγοντες μεταγραφής, αποτρέποντας τη σύνδεσή τους με γονίδια.

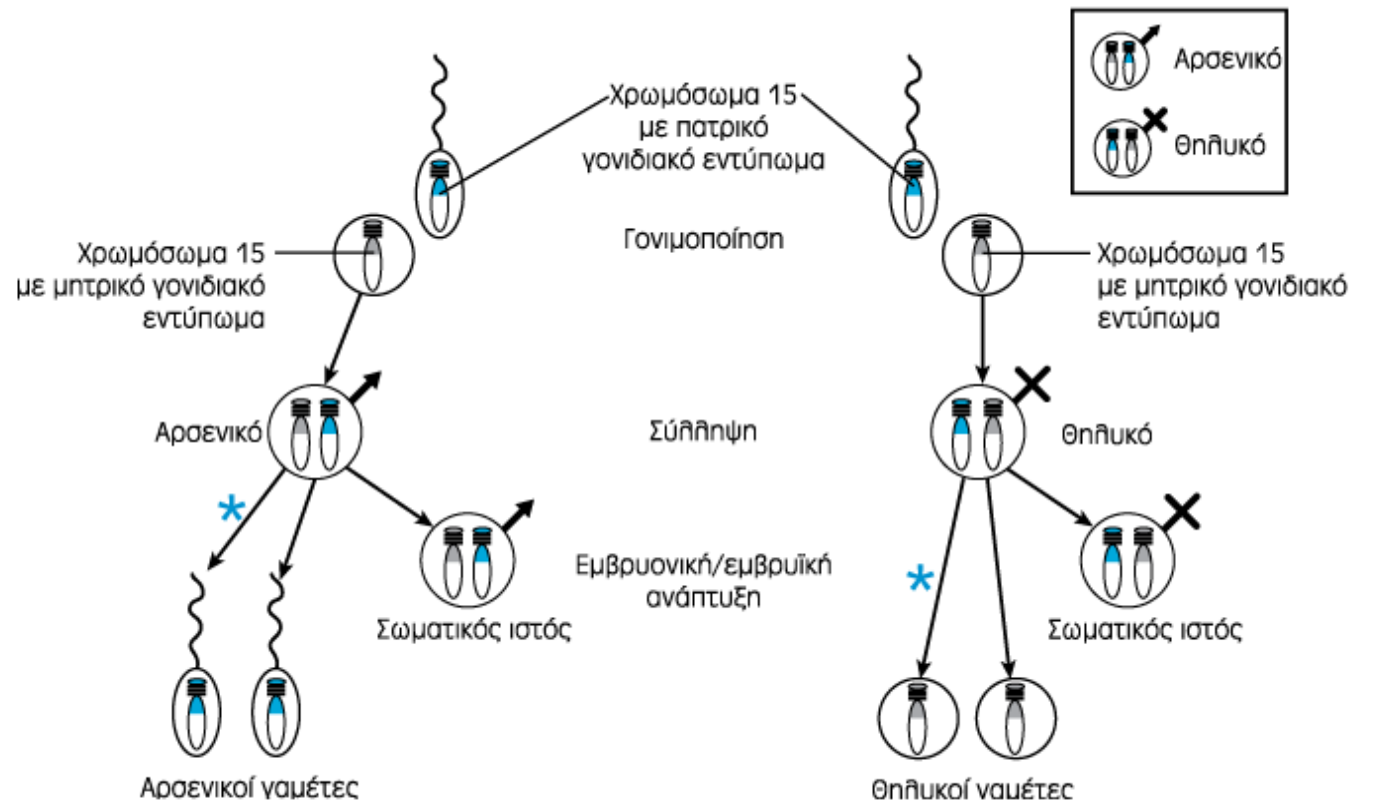
Μη κωδικοποιούμενα RNAs: lncRNAs



Γονιδιακό εντύπωμα*

Η έκφραση ενός γονιδίου ελέγχεται από το ποιος γονέας το κληροδότησε

- **Αποτέλεσμα:** εκφράζεται μόνο ένα αλληλόμορφο (είτε από τη μητέρα είτε από τον πατέρα), ενώ το άλλο είναι σιωπηλό.
- Πολλά εντυπωμένα γονίδια στον άνθρωπο εμπλέκονται στη ρύθμιση αναπτυξιακών διεργασιών και της αύξησης του οργανισμού.
- **Πως?** Μεθυλίωση CpG και υποκινητών

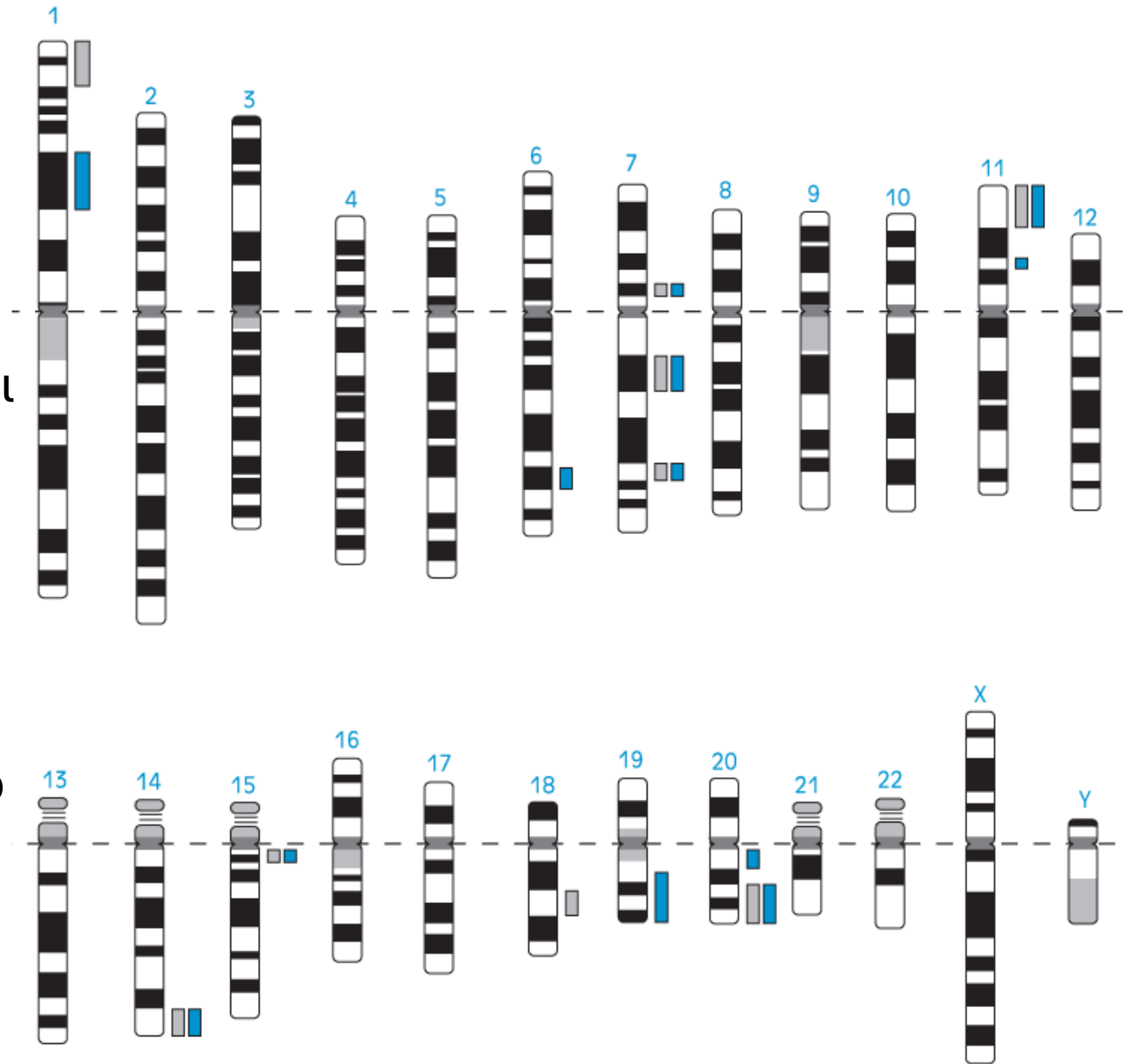


*εντύπωμα ή αποτύπωμα

Γονιδιακό εντύπωμα

Χάρτης περιοχών του γονιδιώματος που υπόκεινται σε γονιδιακό εντύπωμα.

Οι χρωμοσωμικές περιοχές με ένα ή περισσότερα γονίδια που εκφράζονται μόνο από το χρωμόσωμα μητρικής προέλευσης, απεικονίζονται με **γκρι**, ενώ οι χρωμοσωμικές περιοχές με ένα ή περισσότερα γονίδια που εκφράζονται μόνο από το χρωμόσωμα πατρικής προέλευσης με **μπλέ**. Σε κάποιες περιοχές εντοπίζονται ομάδες γονιδίων, κάποια από τα οποία εκφράζονται μόνο από το πατρικό αλληλόμορφο (μητρικό αποτύπωμα) και κάποια άλλα μόνο από το μητρικό αλληλόμορφο (πατρικό αποτύπωμα) (Morison et al., 2005)



Γονιδιακό εντύπωμα – Σύνδρομο

Σύνδρομο Prader Willi: απώλεια έκφρασης των πατρικά εκφρασμένων γονιδίων στο χρωμόσωμα 15, η οποία είναι αποτέλεσμα του μητρικού αποτυπώματος, που σημαίνει ότι τα πατρικά αντίγραφα αυτών των γονιδίων χρειάζονται για να λειτουργήσουν επειδή τα μητρικά αντίγραφα αποσιωπούνται.

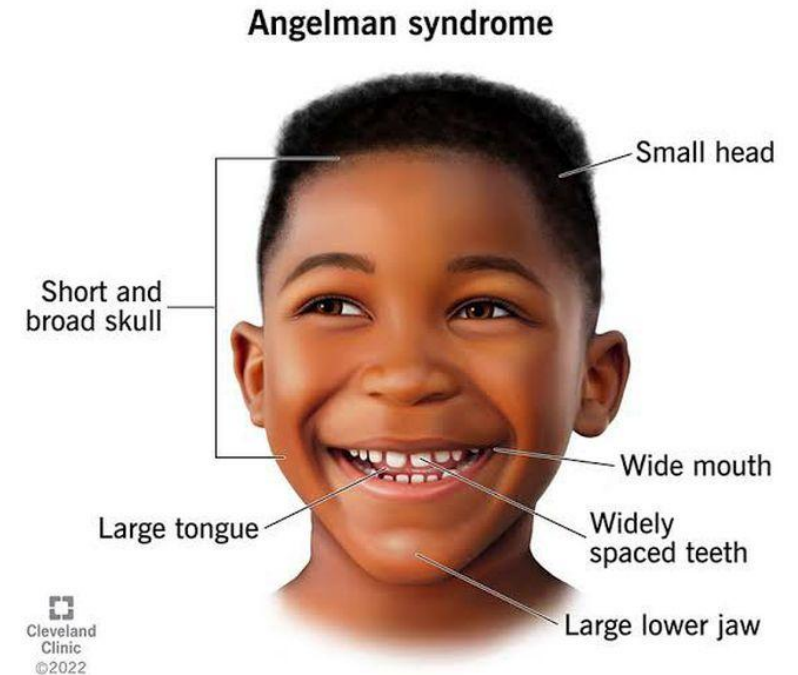
- Παχυσαρκία ή/και διαβήτης τύπου 2
- Υπερφαγία
- Υποτονικοί μύες
- Υπομελάγχρωση
- Λεπτό άνω χείλος
- Ξεσπάσματα θυμού
- Επίπεδη ρινική γέφυρα



Γονιδιακό εντύπωμα – Σύνδρομα

Σύνδρομο Angelman: απώλεια λειτουργίας του γονιδίου UBE3A λόγω μετάλλαξης στο μητρικό αντίγραφο. Οι άνθρωποι συνήθως κληρονομούν ένα αντίγραφο του γονιδίου UBE3A από κάθε γονέα. Και τα δύο αντίγραφα αυτού του γονιδίου είναι ενεργοποιημένα (ενεργά) στους περισσότερους ιστούς του σώματος. Ωστόσο, στα νευρικά κύτταρα (νευρώνες) στον εγκέφαλο και το νωτιαίο μυελό (κεντρικό νευρικό σύστημα), μόνο το αντίγραφο που κληρονομείται από τη μητέρα ενός ατόμου (το μητρικό αντίγραφο) είναι ενεργό λόγω πατρικού αποτυπώματος.

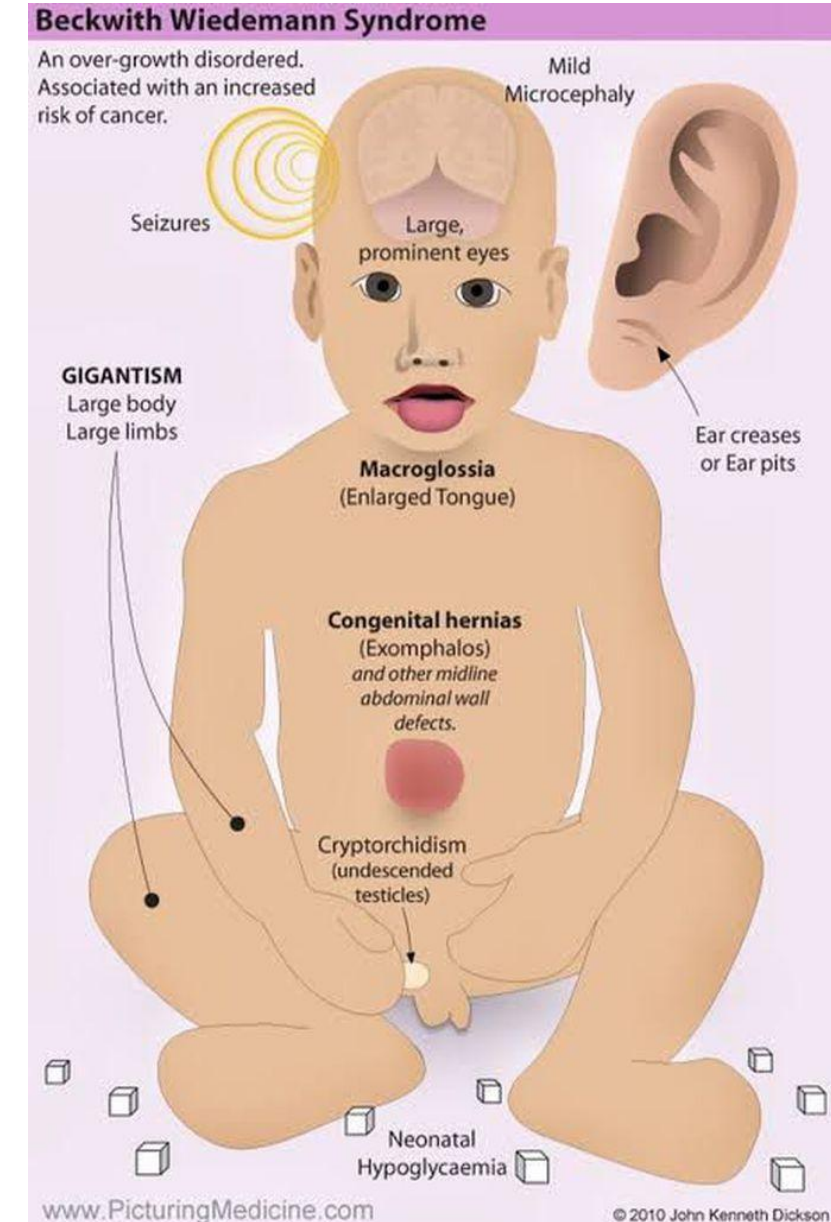
- Μικροκεφαλία
- Νοητική υστέρηση
- Ελάχιστη ή μηδενική ανάπτυξη της ικανότητας της ομιλίας
- Επιληπτικές κρίσεις <3 ετών



Γονιδιακό εντύπωμα – Σύνδρομα

Σύνδρομο Beckwith-Wiedemann: μπορεί να οφείλεται σε μητρικό ή/και πατρικό αποτύπωμα και αφορά στη λειτουργία των γονιδίων *Igf2* και *H19*.

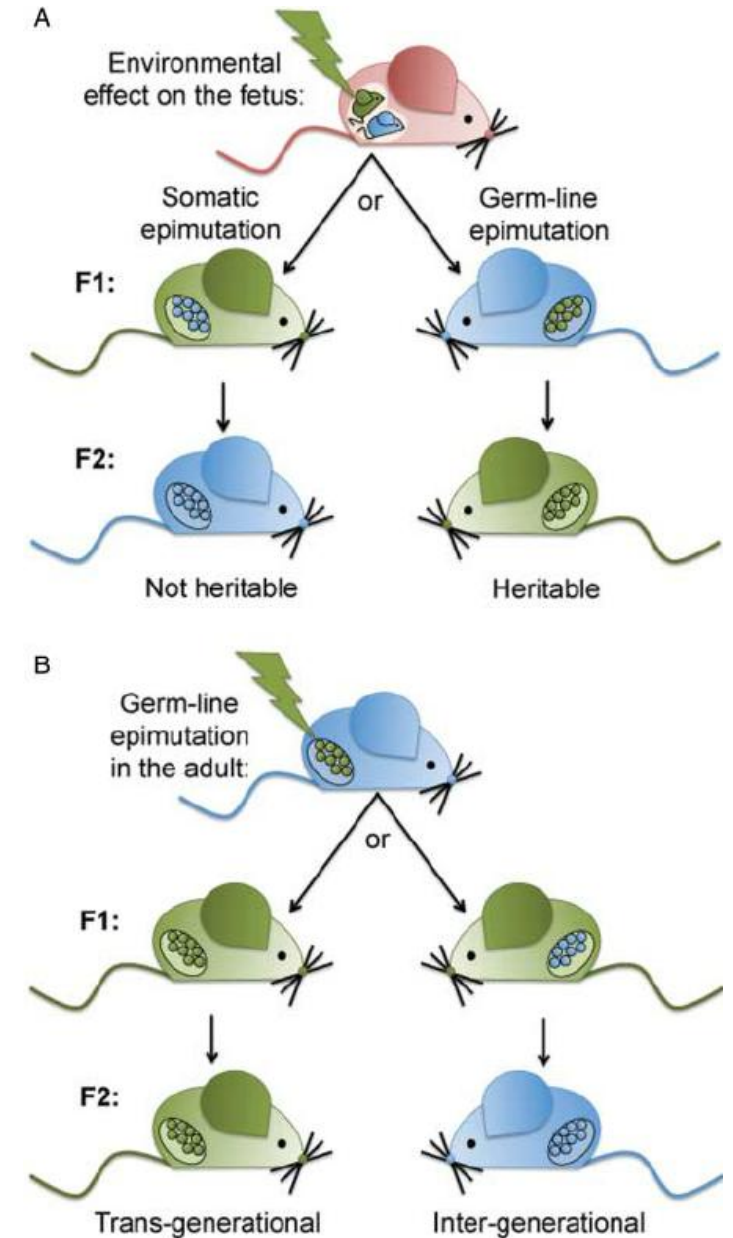
- Μικροκεφαλία
- Επιληπτικές κρίσεις
- Γιγαντισμός
- Νεογνική υπογλυκαιμία
- Μακρογλωσσία
- Κρυφορχία
- Εξόμφαλος (έντερο εκτός κοιλίας)



Επιγενετική κληρονομικότητα

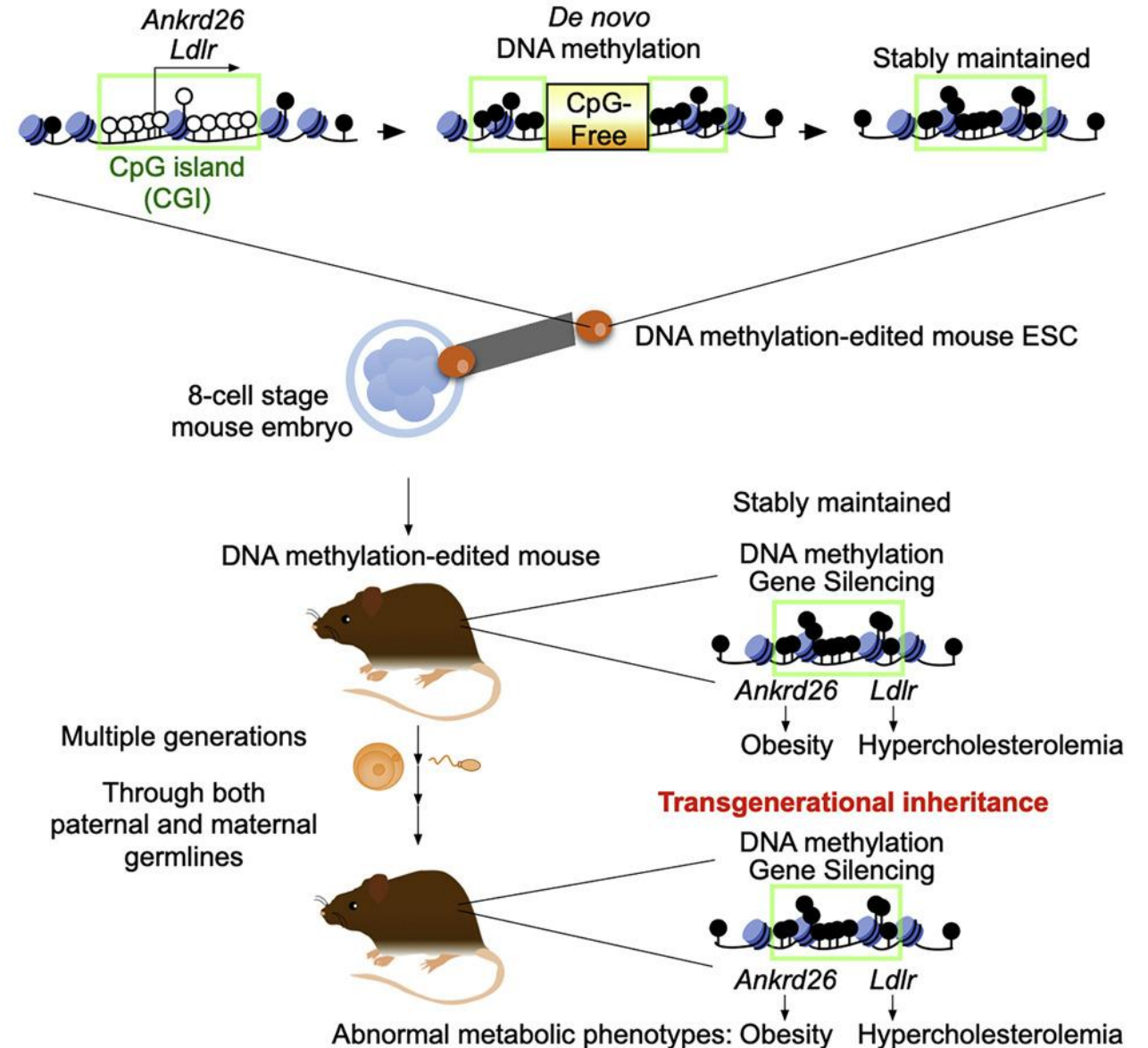
Επιγενετικές αλλαγές:

- Στα σωματικά κύτταρα → μη κληρονομίσιμες
- Στα γαμετικά κύτταρα εμβρύου → φυσιολογικός οργανισμός με κληρονομίσιμες επιγενετικές αλλαγές στους γαμέτες εμφανείς στην επόμενη γενιά
- Στα γαμετικά κύτταρα ενήλικου οργανισμού → κληρονομίσιμες σε όλες τις επόμενες γενιές ή μόνο στην επόμενη γενιά



Επιγενετική κληρονομικότητα

Σταθερά πρότυπα έκφρασης των γονιδίων μπορεί να μεταβιβασθούν στα θυγατρικά κύτταρα και να διατηρηθούν σε όλες τις επόμενες γενιές



Ρύθμιση γονιδιακής έκφρασης μέσω επιγενετικών τροποποιήσεων στο κουτί TATA

- Τα γονίδια που περιέχουν TATA κουτί στους υποκινητές τους δείχνουν **αυξημένη διακύμανση** και **εξελιξιμότητα** σε σχέση με την έκφραση τους.

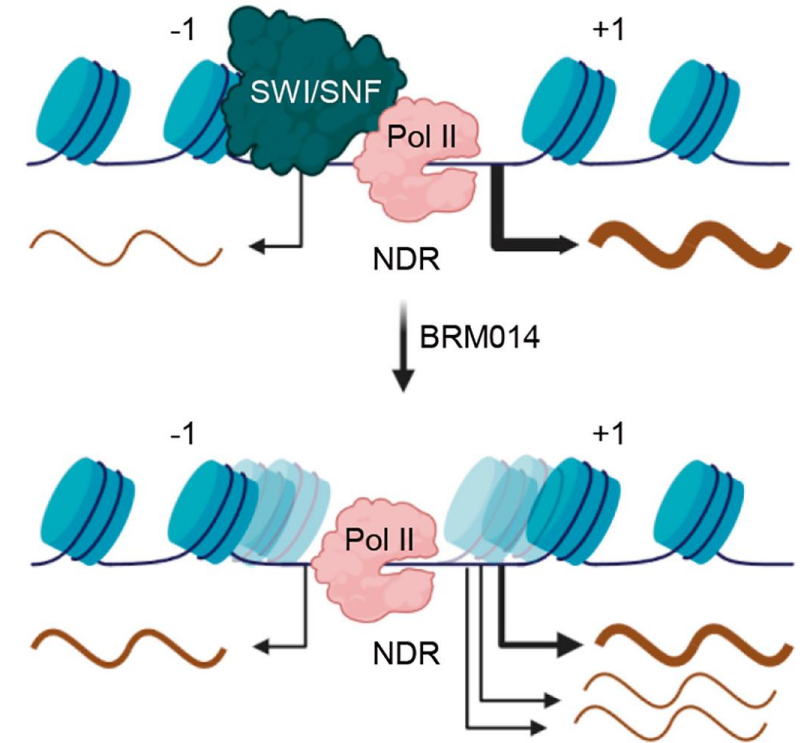
Η αυξημένη διακύμανση της γονιδιακής έκφρασης στα γονίδια αυτά δεν οφείλεται:

- ούτε στην αλληλουχία του υποκινητή καθώς οι αλληλουχίες αυτές είναι αρκετά συντηρητικές σε σχέση με τους υποκινητές που δεν περιέχουν TATA κουτί
- αλλά ούτε και στον αριθμό ή στο είδος των θέσεων δέσμευσης μεταγραφικών παραγόντων μιας και είναι παρόμοιοι μεταξύ των υποκινητών που διαθέτουν ή όχι TATA κουτί

- Η συσχέτιση της παρουσίας του κουτιού TATA και της μεταβλητότητας έκφρασης θα μπορούσε να εξηγηθεί με όρους ρύθμισης της χρωματίνης.
- Η έλλειψη ενεργοποιητικών τροποποιήσεων ιστόνης μπορεί να υποβάλει τους υποκινητές που περιέχουν TATA σε διαδικασίες ρύθμισης της χρωματίνης.
- Η επιγενετική ρύθμιση έχει κεντρικό ρόλο στη διαφορική εξέλιξη της γονιδιακής έκφρασης.

Ο ρόλος της χρωματίνης

- Η φύση του ευκαρυωτικού DNA τείνει να διατηρεί τα γονίδια σε καταστολή
- Για να δράσουν οι μεταγραφικοί παράγοντες πρέπει η σφιχτή δομή της χρωματίνης να χαλαρώσει.
- **Παράδειγμα:** το πρωτεϊνικό σύμπλοκο SWI/SNF
 - Μεταλλάξεις στα συστατικά του συμπλόκου έχει σαν αποτέλεσμα στην μείωση της ενεργότητας συγκεκριμένων γονιδίων στόχων.
 - Μεταλλάξεις στα γονίδια των ιστονών αποκατέστησαν τη φυσιολογική δραστικότητα σε αυτά τα γονίδια στόχους, που σημαίνει ότι οι μεταλλάξεις στα γονίδια των ιστονών αντιστάθμισαν την δράση των μεταλλάξεων στα γονίδια των *Swi/Snf*.

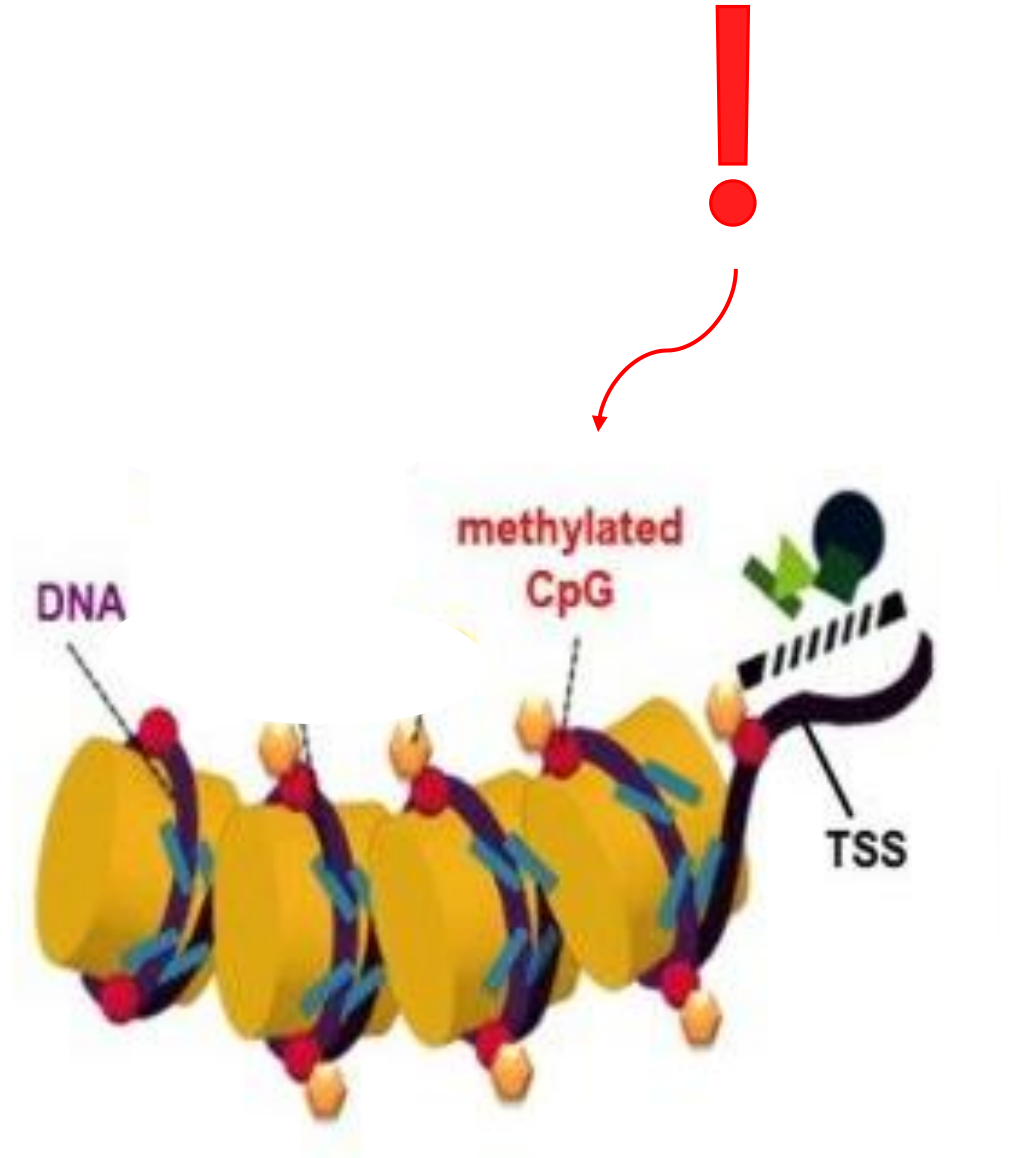


Basurto-Cayuela et al. (2024). SWI/SNF-dependent genes are defined by their chromatin landscape. *Cell reports*, 43(3), 113855.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113855>

Ομαδική άσκηση

Ασθενής με ένα γονίδιο καταστολής όγκου (TSG) που έχει σιγήσει λόγω υπερμεθυλίωσης (CpG islands) και κλειστής χρωματίνης (H3K27me3).

Στρατηγική θεραπείας που να περιλαμβάνει τουλάχιστον δύο επιγενετικούς μηχανισμούς.



Ομαδική άσκηση – Καθοδήγηση

1. Πώς θα επαναφέρετε τη μεθυλίωση του TSG;
2. Πώς θα ανοίξετε τη δομή της χρωματίνης για να επιτρέψετε τη μεταγραφή;
3. Ποιος μηχανισμός θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για να στοχεύσει την έκφραση ενός ογκογονιδίου;

Σας ευχαριστώ πολύ!

*Νικολέττα Παπαευγενίου
nikolpar@hua.gr*