

κλώνο και δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των βάσεων σε αντίθετους κλώνους. Οι σακχαροφωσφορικοί σκελετοί των δύο συμπληρωματικών κλώνων είναι αντιπαράλληλοι και συνεπώς έχουν αντίθετη χημική πολικότητα. Έτσι, οι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί στον έναν κλώνο θα έχουν προσανατολισμό $5' > 3'$, ενώ στον αντίθετο κλώνο θα έχουν προσανατολισμό $3' > 5'$. Η διαμόρφωση αυτή έχει ως αποτέλεσμα τα ζεύγη των βάσεων να στοιβάζονται ανάμεσα στις δύο αλυσίδες, με κατεύθυνση κάθετη προς τον άξονα του μορίου.

Το ζευγάρι των βάσεων γίνεται πάντοτε με ειδικό τρόπο: η αδενίνη (A) ζευγαρώνει πάντοτε με θυμιδίνη (T), ενώ η γουανίνη (G) με κυτοσίνη (C). Η ειδικότητα αυτή οφείλεται στις ιδιότητες των ίδιων των βάσεων να δημιουργούν δεσμούς υδρογόνου: η αδενίνη και η θυμίνη σχηματίζουν δύο δεσμούς υδρογόνου, ενώ η γουανίνη και η κυτοσίνη τρεις. Η ειδικότητα των μοριακών αλληλεπιδράσεων εντός του μορίου του DNA μας επιτρέπει να προβλέψουμε την αλληλουχία των νουκλεοτιδίων σε έναν πολυνουκλεοτιδικό κλώνο, εφόσον είναι γνωστή η αλληλουχία των νουκλεοτιδίων στον συμπληρωματικό κλώνο (8).

Υπάρχουν τρεις μορφές έλικας του DNA: A, B και Z (9). Η διαμόρφωση B είναι η πιο κοινή, υπό φυσιολογικές συνθήκες. Σε αυτή τη μορφή DNA τα ζεύγη των βάσεων απέχουν 0,34 nm μεταξύ τους, ενώ η δεξιόστροφη διπλή έλικα έχει διάμετρο 2 nm περίπου και περιλαμβάνει 10 ζεύγη βάσεων σε κάθε στροφή. Η μορφή A είναι επίσης δεξιόστροφη αλλά, σε αντίθεση με τη μορφή B, έχει μεγαλύτερη διάμετρο (2,6 nm), περιλαμβάνει 11 ζεύγη βάσεων ανά στροφή της έλικας και οι βάσεις απέχουν λιγότερο μεταξύ τους (0,25 nm). Η προσεκτική εξέταση των μοντέλων πλήρωσης χώρου στις διαμορφώσεις DNA A και B αποκαλύπτει την ύπαρξη μιας μεγάλης αύλακας και μιας μικρής αύλακας (9) που περιέχουν πολλά μόρια νερού, τα οποία αλληλεπιδρούν με τις αμινομάδες και τις κετονομάδες των βάσεων. Στις αύλακες αυτές εντοπίζονται διάφορες πρωτεΐνες δέσμευσης του DNA, οι οποίες δεσμεύονται σε συγκεκριμένες αλληλουχίες βάσεων χωρίς να διαταράσσουν το ζευγάρι τους. Η διαμόρφωση Z του DNA είναι μια αριστερόστροφη έλικα που έχει παρατηρηθεί κυρίως σε συνθετικά δίκλινα ολιγονουκλεοτίδια, ιδίως όταν αυτά περιέχουν διαδοχικές πουρίνες και πυριμιδίνες. Η μορφή Z διαθέτει μόνο μια μικρή αύλακα και συνήθως εντοπίζεται σε τμήματα του DNA με υψηλό βαθμό μεθυλίωσης, τα οποία δεν μεταγράφονται.

Το διπλοειδές γονιδίωμα ενός τυπικού ανθρώπινου κυττάρου περιλαμβάνει περίπου 3 δισεκατομμύρια ζεύγη βάσεων, χωρισμένα σε 46 δομικές μονάδες που καλούνται χρωμοσώματα. Κάθε χρωμόσωμα αποτελεί ένα μοναδικό μόριο DNA με χωριστή γενετική ταυτότητα, στο οποίο προσκολλώνται πολλά πρωτεϊνικά μόρια που συμμετέχουν στη διατήρηση της δομής του χρωμοσώματος και στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης (10). Τα 46 χρωμοσώματα ενός διπλοειδούς κυττάρου χωρίζονται σε 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων (22 αυτοσωμικά ζεύγη και τα χρωμοσώματα του φύλου, X

και Y). Ο αριθμός των γονιδίων που περιέχει το ανθρώπινο γονιδίωμα δεν είναι γνωστός. Οι πρώτες εκτιμήσεις ανέφεραν ότι μπορεί να φθάσει τα 70.000 έως 100.000 γονίδια (11-13), αλλά πρόσφατα ο αριθμός αυτός ελαττώθηκε στα 30.000 με 40.000 γονίδια (14-17). Οι αρχικές αναλύσεις των πρόχειρα προσδιορισμένων αλληλουχιών του ανθρώπινου γονιδιώματος έδειξαν ότι υπάρχει σημαντική ποικιλότητα μεταξύ των διάφορων ατόμων: για παράδειγμα, σε ολόκληρο το γονιδίωμα υπάρχουν τουλάχιστον 1,1 εκατομμύρια μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (single nucleotide polymorphisms, SNP), ενώ ο αριθμός αυτός μπορεί και να ξεπερνά τα 1,4 εκατομμύρια (15, 18). Η διευκρίνιση της αλληλουχίας του ανθρώπινου γονιδιώματος, η αναγνώριση και ο χαρακτηρισμός των γονιδίων που περιέχει, και η περιγραφή των χαρακτηριστικών του γονιδιώματος (SNP και άλλες παραλλαγές) συνεχίζονται με γρήγορους ρυθμούς (<http://www.nhgri.nih.gov/>).

Το DNA σε κάθε ευκαρυωτικό κύτταρο πρέπει να συμπιεστεί (πρότυπο ιεραρχικής οργάνωσης) ώστε να χωρέσει μέσα σε έναν πυρήνα με διάμετρο μόλις 10 μm. Το χρωμοσωμικό DNA συμπυκνώνεται μέσω του μηχανισμού των νουκλεοσωμάτων, που είναι ομάδες μικρών βασικών πρωτεϊνών (ιστόνες) γύρω από τις οποίες τυλίγονται 160-180 ζεύγη βάσεων (base pairs, bp) του DNA (19). Ο σχηματισμός νουκλεοσωμάτων δεν εξαρτάται από την αλληλουχία του DNA, ενώ πραγματοποιείται με παρόμοιο τρόπο στο DNA των θηλαστικών, των βακτηρίων και των ιών (20). Τα νουκλεοσώματα τυλίγονται σε αριστερόστροφη έλικα για την περαιτέρω συμπύκνωση του DNA και σχηματίζουν ανώτερα επίπεδα δομής, όπως υπερέλικες και ρόδακες. Το υπερσυμπυκνωμένο DNA (ετεροχρωματίνη), που είναι μεταβολικά αδρανές, εντοπίζεται κυρίως στην περιφέρεια του πυρήνα, ενώ το λιγότερο συμπυκνωμένο DNA (ευχρωματίνη) είναι προσπελάσιμο στους μεταγραφικούς μηχανισμούς και βρίσκεται στο κέντρο του πυρήνα (21).

Το γονιδιωμικό DNA περιλαμβάνει τόσο «κωδικές» όσο και «μη κωδικές» αλληλουχίες. Οι μη κωδικές αλληλουχίες περιέχουν πληροφορίες που δεν χρησιμεύουν στη σύνθεση λειτουργικού μορίου RNA ή πρωτεΐνης (11, 22) αλλά συμμετέχουν στην αναδίπλωση του DNA, στη δομή του χρωμοσώματος, στην οργάνωση της χρωματίνης μέσα στον πυρήνα ή στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης (23, 24). Κάποιες από τις μη κωδικές αλληλουχίες είναι οι λεγόμενες «παρεμβαλλόμενες αλληλουχίες» ή «ιντρόνια» (intervening sequences, introns), οι οποίες χωρίζουν τις κωδικές περιοχές των δομικών γονιδίων σε μικρότερα τμήματα. Οι κωδικές αλληλουχίες του DNA καθοδηγούν τη μεταγραφή όλων των μορίων RNA του κυττάρου, συμπεριλαμβανομένου του mRNA.

Μιτοχονδριακό DNA

Οι πρόσφατες εξελίξεις στη γονιδιωμική επικεντρώνονται στην ανάλυση της αλληλουχίας και στον χαρακτηρισμό του

πυρηνικού γονιδιώματος του ανθρώπου. Το γονιδιωματικό DNA αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος του κυτταρικού DNA, όμως μια μικρή ποσότητα DNA υπάρχει και στο μιτοχόνδριο. Το μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) είναι ένα μικρό, δίκλωνο μόριο σε μορφή κλειστού κύκλου, που περιέχει περίπου 16.569 νουκλεοτίδια (25). Αυτό το DNA κωδικοποιεί τις πρωτεΐνες (υπομονάδες) που απαιτούνται για τη σωστή λειτουργία των μιτοχονδρίων, με κυριότερες τις πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και το μιτοχονδριακό ένζυμο της συνθάσης της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP). Σε αντίθεση με το πυρηνικό DNA, το mtDNA δεν περιλαμβάνει μη κωδικές περιοχές και τα γονιδιά του δεν περιέχουν ιντρόνια. Επιπλέον, το mtDNA δεν οργανώνεται μέσω ιστονών. Άλλη σημαντική διαφορά είναι το γεγονός ότι το mtDNA δεν διαθέτει σύστημα επιδιόρθωσης βλαβών. Κατά συνέπεια, το ποσοστό παραλλαγών στο mtDNA είναι πολύ υψηλότερο (έως και 10 φορές) απ' ό,τι στο πυρηνικό DNA. Τέτοιες παραλλαγές είναι π.χ. μεγάλες δομικές τροποποιήσεις ή μεμονωμένες σημειακές αλλαγές. Γενικά, το mtDNA έχει τα μοναδικά χαρακτηριστικά ότι κληρονομείται αποκλειστικά από τη μητέρα στους απογόνους και ότι κάθε μιτοχόνδριο περιέχει πολλαπλά αντίγραφα του μορίου του mtDNA. Σε ένα μοναδικό κύτταρο μπορεί να υπάρχουν μιτοχόνδρια που περιέχουν φυσιολογικό και μεταλλαγμένο mtDNA (ετεροπλάσμια). Κατ' αντιδιαστολή, ο όρος «ομοιοπλάσμια» σημαίνει την παρουσία μιτοχονδρίων με αποκλειστικά φυσιολογικό ή αποκλειστικά μεταλλαγμένο mtDNA.

Ριβονουκλεϊκά οξέα (RNA)

Όπως και το DNA, έτσι και το RNA αποτελείται από επαναλαμβανόμενες υπομονάδες νουκλεοτιδίων πουρίνης και πυριμιδίνης. Αντί για τη 2'-δεοξυριβόζη του DNA, το σάκχαρο του RNA είναι η ριβόζη. Περιέχει επίσης αδείνη, γουανίνη και κυτοσίνη, αλλά αντί για θυμιδίνη περιέχει ουρακίλη. Επειδή το μόριο του RNA αποτελείται από έναν κλώνο, το ποσοστό των βάσεων πουρίνης δεν ισούται απαραίτητα με το ποσοστό των βάσεων πυριμιδίνης. Τα μονομερή του RNA συνδέονται με 3',5'-φωσφοδιεστερικούς δεσμούς, ανάλογους με τους δεσμούς στο DNA. Τα μονόκλινα μόρια RNA σχηματίζουν πολυσύνθετες δευτεροταγείς δομές, όπως μίσχους και βρόχους, μέσω ζευγαρώματος τύπου Watson-Crick μεταξύ αδείνης και ουρακίλης, καθώς και μεταξύ γουανίνης και κυτοσίνης.

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα υπάρχουν τρεις κύριες μορφές RNA: το ριβοσωμικό RNA (rRNA), το μεταφορικό RNA (tRNA) και το αγγελιοφόρο RNA (mRNA). Από αυτά, το rRNA είναι το πιο σταθερό και βρίσκεται στη μεγαλύτερη ποσότητα. Το rRNA χαρακτηρίζεται από εκτεταμένη μεθυλίωση και συνδέεται με πρωτεΐνες για να σχηματίσει τα ριβοσώματα, τα οποία συμμετέχουν στη σύνθεση των πρωτεϊνών (25). Στα ευκαρυωτικά κύτταρα απαντούν δύο κύρια είδη rRNA, τα 28S και 18S, καθώς και δύο δευτερεύοντα, τα

5,8S και 5S. Τα αμινοξέα που προστίθενται στην επιμηκυνόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα κατά την πρωτεϊνοσύνθεση μεταφέρονται από τα tRNA. Όλα τα tRNA σχηματίζουν δευτεροταγείς δομές που περιλαμβάνουν τέσσερις μίσχους και τρεις βρόχους. Πολλές από τις βάσεις του μορίου έχουν τροποποιηθεί με προσθήκη μεθυλίου, αιθυλίου, θειολομάδας ή ακετυλίου (27,28). Η γονιδιακή έκφραση επιτελείται μέσω του mRNA, το οποίο μεταφέρει πληροφορίες κωδικοποίησης από το DNA στα ριβοσώματα ώστε να γίνει η μετάφραση. Το mRNA είναι το πιο ετερογενές από τα RNA και έχει επίσης τον μικρότερο χρόνο ζωής. Μερικά άλλα είδη RNA στα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι τα ετερογενή πυρηνικά RNA (hn-RNA), που είναι οι πρόδρομοι του ώριμου mRNA (29), και τα μικρά πυρηνικά RNA (snRNA), που συμμετέχουν στη σύνθεση και την επεξεργασία του mRNA (30).

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Τα περισσότερα από τα γονίδια που μεταγράφονται σε mRNA και μεταφράζονται σε κυτταρικές πρωτεΐνες υπάρχουν σε δύο αντίγραφα στον πυρήνα κάθε κυττάρου, ένα μητρικό και ένα πατρικό αντίγραφο. Κάποια γονίδια απαντούν σε μεγάλο αριθμό αντιγράφων (100–250 αντίγραφα) στο γονιδίωμα, όπως τα γονίδια που κωδικοποιούν το tRNA, το rRNA και τις ιστόνες (31). Τα δομικά γονίδια περιλαμβάνουν τόσο κωδικές (εξόνια) όσο και μη κωδικές (ιντρόνια) αλληλουχίες (Εικόνα 1-3). Οι αλληλουχίες των περισσότερων γονιδίων καταλαμβάνονται περισσότερο από ιντρόνια παρά από DNA που κωδικοποιεί πρωτεΐνη. Εκτός από αυτά τα δομικά χαρακτηριστικά, κάθε γονίδιο περιλαμβάνει και διάφορες ρυθμιστικές αλληλουχίες. Η πιο κοινή τέτοια αλληλουχία είναι ο υποκινητής (promoter), που συνήθως βρίσκεται ανοδικά ή στο 5' άκρο της αλληλουχίας του γονιδίου. Μέσα στον υποκινητή υπάρχει η θέση έναρξης της μεταγραφής, η αλληλουχία TATA. Στην αλληλουχία TATA συνδέεται η RNA πολυμεράση II προκειμένου να ξεκινήσει η μεταγραφή. Ο υποκινητής είναι απαραίτητος για την έκφραση του γονιδίου σε κάθε τύπο κυττάρου, ενώ άλλες ρυθμιστικές αλληλουχίες, οι λεγόμενοι «ενισχυτές» (enhancers), καθορίζουν την ειδικότητα της γονιδιακής έκφρασης κατά τύπο ιστού ή κυττάρου. Οι ενισχυτές αυτοί απαντούν είτε ανοδικά (σε κατεύθυνση 5', "upstream") είτε καθοδικά (σε κατεύθυνση 3', "downstream") της κωδικής περιοχής, σε απόσταση ακόμα και μερικών χιλιάδων βάσεων από το ίδιο το γονίδιο.

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ

Μεταγραφή

Τα γονίδια του ανθρώπινου γονιδιώματος είναι τόσο πολλά ώστε οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από αυτά δεν εκφράζονται ποτέ ταυτόχρονα. Η μεταφορά γενετικών πληροφοριών από το DNA στην πρωτεΐνη αρχίζει με τη μεταγραφή,



Εικόνα 1-3 Σχηματική αναπαράσταση της δομής των γονιδίων. Τα ανθρώπινα γονίδια περιλαμβάνουν τόσο κωδικές αλληλουχίες (εξόνια) όσο και μη κωδικές αλληλουχίες (ιντρόνια), καθώς και άλλες ρυθμιστικές αλληλουχίες.

τη διαδικασία κατά την οποία συντίθενται μόρια RNA από μια μήτρα DNA μέσω της RNA πολυμεράσης. Το ολοένζυμο της RNA πολυμεράσης λειτουργεί με επαναληπτικό τρόπο, χτίζοντας μια αλυσίδα RNA από τριφωσφορικά ριβονουκλεοσίδια (ATP, GTP, CTP, UTP) (32). Για την έναρξη της μεταγραφής απαιτείται σύνδεση του μεταφραστικού μηχανισμού (RNA πολυμεράση και μεταγραφικοί παράγοντες) στη μήτρα DNA και σύνθεση ενός μικρού ριβονουκλεοτιδικού εκκινητή (primer), από τον οποίο θα ξεκινήσει ο πολυμερισμός του κλώνου του RNA (33). Η έναρξη της μεταγραφής δεν είναι τυχαία, αλλά πραγματοποιείται σε συγκεκριμένες αλληλουχίες υποκινητή στο 5' άκρο των δομικών γονιδίων. Σε κάθε γονίδιο η μεταγραφή ξεκινά ανεξάρτητα, από τον αντίστοιχο υποκινητή, και συνεπώς η απόδοσή της ποικίλλει αρκετά, ανάλογα με την ισχύ του υποκινητή. Αφού η RNA πολυμεράση δεσμευτεί στον υποκινητή, η έλικα του DNA ανοίγει και πραγματοποιείται η σύνθεση ενός εκκινητή RNA. Αυτός επιμηκύνεται καθώς η RNA πολυμεράση κινείται κατά μήκος του κλώνου του DNA, ανοίγοντας την έλικα και συνθέτοντας RNA με βάση τις πληροφορίες του DNA, μέχρι να μεταγραφεί ολόκληρο το γονίδιο (32). Ο τρόπος τερματισμού της μεταγραφής στα ευκαρυωτικά κύτταρα δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητός, αλλά πραγματοποιείται σε ένα σημείο που περιλαμβάνει μια σειρά θυμιδινών, στον μη κωδικό κλώνο του γονιδίου (34).

Επεξεργασία του RNA

Το πρωτογενές μετάγραφο RNA πρέπει να υποβληθεί σε μια σειρά τροποποιήσεων για να μετατραπεί σε ώριμο mRNA. Τέτοιες τροποποιήσεις είναι π.χ. η αφαίρεση ορισμένων αλληλουχιών RNA, η προσθήκη άλλων αλληλουχιών και η προσθήκη ομοιοπολικών συνδεδεμένων ομάδων σε ορισμένες βάσεις. Η μακριά και σχετικώς ασταθής αλυσίδα του πρόδρομου mRNA (hn-RNA) συντίθεται και παραμένει μέσα στον πυρήνα, όπου και υφίσταται διάφορες τροποποιήσεις που βελτιώνουν τη σταθερότητά της. Τα 5' άκρα των ευκαρυωτικών πρόδρομων μορίων mRNA (εκτός από τα μιτοχονδριακά mRNA) «καλύπτονται». Το κάλυμμα (cap) αυτό

συνίσταται στην αφαίρεση της τελικής φωσφορικής ομάδας από το 5'-τριφωσφορικό νουκλεοσίδιο και στη σύνδεση της 5'-διφωσφορικής ομάδας που προκύπτει με ένα μόριο GTP (35). Κατόπιν το κάλυμμα υφίσταται ομοιοπολική μεθυλίωση στην προστεθείσα γουανίνη. Το hn-RNA τροποποιείται επίσης στο 3' άκρο με προσθήκη μιας «ουράς» πολυαδενυλικού οξέος (poly-A), μιας σειράς από 50 έως 250 μόρια αδενης. Η ουρά poly-A παρατείνει τη ζωή του mRNA, καθώς προστατεύει το 3' άκρο του μορίου από τις 3'-εξωνουκλεάσες, ενώ πιθανόν να ενισχύει και τη μεταφραστική αποτελεσματικότητα (36). Το μόριο του mRNA σταθεροποιείται περαιτέρω μέσω της σύνδεσης μιας πρωτεΐνης (~70 kDa) με την ουρά poly-A (37).

Η πλειονότητα των ευκαρυωτικών γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες περιέχουν παρεμβαλλόμενες αλληλουχίες (ιντρόνια) που δεν κωδικοποιούν κάποιο τμήμα της πρωτεΐνης. Τα ιντρόνια αυτά διατηρούνται κατά τη μεταγραφή του μορίου hn-RNA, με αποτέλεσμα να παράγεται ένα μακρύ μόριο hn-RNA που πρέπει να τροποποιηθεί ώστε να σχηματιστεί η συνεχής μήτρα για τη σύνθεση της κωδικοποιούμενης πρωτεΐνης. Αυτή η ωρίμαση του hn-RNA περιλαμβάνει την αφαίρεση των ιντρονίων και τη σύνδεση των κωδικών αλληλουχιών, που καλούνται «εξόνια», μεταξύ τους. Το μέγεθος των ιντρονίων ποικίλλει πολύ, τόσο σε κάθε γονίδιο όσο και μεταξύ διαφορετικών γονιδίων. Μπορεί να είναι πολύ μικρά (65–200 bp) ή πολύ μεγάλα (>10.000 bp). Ανεξάρτητα από το μέγεθός τους, όλα περιλαμβάνουν ομόφωνες (consensus) αλληλουχίες που συνεργάζονται για να αφαιρεθούν τα ιντρόνια κατά τη διαδικασία της «συναρμογής» (splicing) του RNA (38). Οι αλληλουχίες αυτές υποδεικνύουν τις θέσεις συναρμογής και λειτουργούν ως στόχοι για το σύμπλεγμα συναρμογής (spliceosome), ένα μεγάλο πρωτεϊνικό σύμπλεγμα με πολλές υπομονάδες που περιέχει 45 πρωτεΐνες και χιλιάδες μόρια snRNA (38). Το σύμπλεγμα συναρμογής καταλύει την αφαίρεση των ιντρονίων και την επανασύνδεση των εξονίων, ώστε να προκύψει ένα λειτουργικό μόριο mRNA που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη. Κάποια δομικά γονίδια κωδικοποιούν περισσότερες από

μία πρωτεΐνες. Η δημιουργία πολλών ειδών πρωτεϊνών από ένα μόνο γονίδιο επιτυγχάνεται με τους μηχανισμούς της εναλλακτικής συναρμογής του πρωτογενούς μεταγράφου hn-RNA, ώστε να προκύψουν δύο (ή περισσότερα) διαφορετικά mRNA. Ένας τέτοιος μηχανισμός εναλλακτικής συναρμογής είναι η παράλειψη ενός ή περισσότερων εξονίων, όπου το σύμπλεγμα συναρμογής προσπερνά ένα ή περισσότερα όρια ιντρονίου/εξονίου (39). Εναλλακτικά μετάγραφα μπορούν να προκύψουν και με χρήση μιας δευτερεύουσας θέσης πολυαδενυλίωσης (40).

Επεξεργασία δεν υφίσταται μόνο το mRNA. Τα ευκαρυωτικά tRNA τροποποιούνται μετά τη μεταγραφή, όπως και τα ευκαρυωτικά rRNA (41). Τα ιντρόνια των rRNA χωρίζονται σε ιντρόνια ομάδας I και ιντρόνια ομάδας II. Τα ιντρόνια της ομάδας I αφαιρούνται ως γραμμικά μόρια, μέσω ενός μηχανισμού «αυτοσυναρμογής» που χρησιμοποιεί άτομα μαγνησίου και μόρια γουανοσίνης ως συμπαραγόντες (42). Τα ιντρόνια της ομάδας II επίσης αφαιρούνται αυτόματα, σε μορφή θηλιάς, και για την αφαίρεσή τους απαιτείται σπερμιδίνη (43).

Μετάφραση

Μετά την παραγωγή του ώριμου mRNA, η αλληλουχία του μεταφράζεται σε πρωτεΐνη μέσα στο κυτταρόπλασμα. Μέσω μιας διαδικασίας που καταλύεται από το ριβόσωμα, το mRNA διαβάζεται από διαδοχικά tRNA, καθένα από τα οποία περιέχει ένα ειδικό «αντικωδικόνιο» από τρεις βάσεις που αντιστοιχεί σε ένα ορισμένο αμινοξύ. Τα αντικωδικόνια δεσμεύονται στα κωδικόνια του mRNA ώστε να προκύψει η σωστή αμινοξική αλληλουχία για τη συγκεκριμένη πρωτεΐνη. Πολλές πρωτεΐνες υφίστανται επίσης διάφορες μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις. Για μια γενική παρουσίαση του θέματος αυτού, βλ. Gebauer και Henze (44).

Ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης

Η γονιδιακή έκφραση στα ευκαρυωτικά κύτταρα ελέγχεται μέσω διάφορων μηχανισμών, όπως η σταθερότητα του mRNA, ο ρυθμός μετάφρασης, η συναρμογή και η σταθερότητα των παραγόμενων πρωτεϊνών. Ο κυριότερος μηχανισμός όμως λειτουργεί στο επίπεδο της μεταγραφής. Κάποια γονίδια, τα λεγόμενα «γονίδια κυτταρικής οικονομίας» (“housekeeping”), πρέπει να εκφράζονται διαρκώς, ανεξάρτητα από τις άλλες μεταβολικές ανάγκες του κυττάρου. Τα γονίδια αυτά μεταγράφονται διαρκώς, με τον ίδιο περίπου ρυθμό, και συνεπώς εκφράζονται σε σταθερό επίπεδο (constitutive expression). Σε άλλα γονίδια, το επίπεδο της μεταγραφής ελέγχεται αυστηρά και η έκφρασή τους επάγεται ή καταστέλλεται ανάλογα με τις μεταβολικές συνθήκες του κυττάρου. Κάποια πειραματικά μοντέλα αξιοποιούν το φαινόμενο αυτό για την κατασκευή γονιδιακών φορέων έκφρασης με υποκινητές που ρυθμίζονται μεταβολικά για να ελεγχθεί η έκφραση ενός ορισμένου γονιδίου.

ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ ΚΑΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ

Μια βλάβη στο DNA μπορεί να προκληθεί είτε από αυθόρμητη αλλαγή στο μόριο του DNA είτε από την αλληλεπίδραση πολυάριθμων χημικών και φυσικών παραγόντων με το μόριο (45). Αυθόρμητες βλάβες δημιουργούνται κατά τη διάρκεια των φυσιολογικών κυτταρικών διεργασιών όπως η αντιγραφή και η επιδιόρθωση του DNA ή η αναδιάταξη των γονιδίων (46), ή μέσω χημικής τροποποίησης του ίδιου του μορίου λόγω υδρόλυσης, οξειδωσης ή μεθυλίωσης (47,48). Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι βλάβες του DNA δημιουργούν ασυμφωνίες στο ζευγάρι των νουκλεοτιδίων (αζευγάρωτες βάσεις) που οδηγούν σε σημειακές παραλλαγές του μορίου.

Οι διάφορες μορφές αυθόρμητων και προκαλούμενων βλαβών του DNA δημιουργούν διάφορους τύπους παραλλαγών του μορίου, όπως αδρές μεταβολές των χρωμοσωμάτων ή μεταβολές σε συγκεκριμένες γονιδιακές αλληλουχίες (49). Οι αδρές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, που εντοπίζονται με κοινές καρυοτυπικές αναλύσεις χρωμοσωμάτων και μελέτη της ζώνωσης G, είναι – μεταξύ άλλων – οι μεγάλες ελλείψεις, οι προσθήκες (που αντιστοιχούν σε ενίσχυση / πολλαπλασιασμό κάποιων αλληλουχιών) και οι μετατοπίσεις (αμοιβαίες και μη). Η σημαντικότερη συνέπεια μιας χρωμοσωμικής έλλειψης είναι η απώλεια των γονιδίων εκείνων που βρίσκονται στη χαμένη περιοχή του χρωμοσώματος, με συνέπεια την αλλαγή του αριθμού των αντιγράφων των γονιδίων αυτών. Η απώλεια ορισμένων ειδών γονιδίων, όπως τα ογκοκατασταλτικά γονίδια ή τα γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην επιδιόρθωση του DNA, δημιουργούν προδιάθεση του κυττάρου για νεοπλασματική εξαλλαγή (50,51). Αντιστοίχως, η ενίσχυση κάποιων χρωμοσωμικών περιοχών προκαλεί αύξηση του αριθμού των αντιγράφων, γεγονός που μπορεί να έχει τις ίδιες συνέπειες εάν η συγκεκριμένη περιοχή περιέχει επικρατή πρωτοογκογονίδια ή άλλους μεσολαβητές του κυτταρικού κύκλου και της κυτταρικής διαίρεσης. Το άμεσο αποτέλεσμα μιας χρωμοσωμικής μετατόπισης είναι η μετακίνηση ενός τμήματος DNA από τη φυσική του θέση σε μια άλλη θέση στο γονιδίωμα, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων που περιλαμβάνονται στο μετατοπισμένο τμήμα. Εάν τα σημεία θραύσης της μετατόπισης βρίσκονται μέσα σε δομικά γονίδια, τότε ενδέχεται να δημιουργηθούν νέα υβριδικά (χιμαιρικά) γονίδια.

Οι πιο κοινές μορφές παραλλαγών είναι οι μονονουκλεοτιδικές μεταβολές, οι μικρές ελλείψεις και οι μικρές ενθέςεις σε συγκεκριμένες γονιδιακές αλληλουχίες. Σε πολλές περιπτώσεις, αυτές οι μικροσκοπικές μεταβολές εντοπίζονται μόνο μέσω ανάλυσης της αλληλουχίας του DNA. Οι μονονουκλεοτιδικές αλλαγές που συνίστανται σε αλλαγή της φυσιολογικής κωδικής αλληλουχίας του γονιδίου ονομάζονται «σημειακές παραλλαγές». Οι περισσότερες τέτοιες παραλλαγές συνεπάγονται μεταβολή στην αμινοξική αλ-