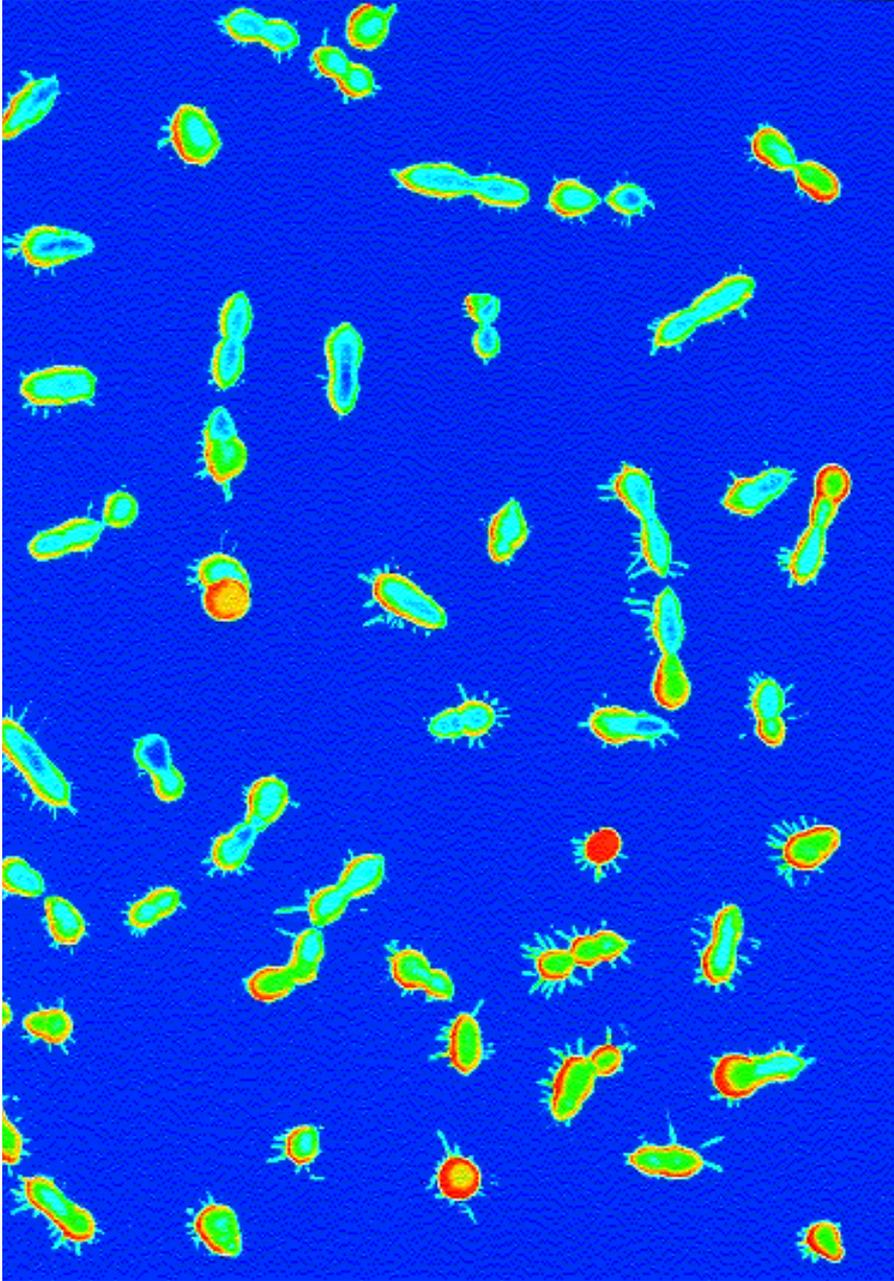


## Το γενετικό υλικό



Πνευμονιόκοκκοι (*Diplococcus pneumoniae*).  
Φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης.

κεφάλαιο

1



# 1. Το γενετικό υλικό

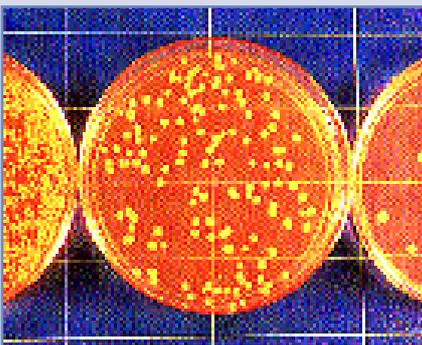
## Το DNA είναι το γενετικό υλικό

Παρόλο που το DNA εντοπίστηκε στον πυρήνα των κυττάρων το 1869, έως και το 1944 δεν ήταν γνωστό ότι αποτελεί το γενετικό υλικό των οργανισμών. Οι επιστήμονες πίστευαν ότι τα μόρια που μεταφέρουν τη γενετική πληροφορία είναι οι πρωτεΐνες, που παρουσιάζουν μεγαλύτερη ποικιλομορφία, επειδή είναι αποτέλεσμα συνδυασμού είκοσι διαφορετικών αμινοξέων, ενώ τα νουκλεϊκά οξέα είναι συνδυασμός τεσσάρων μόνο νουκλεοτιδίων!

Το 1928 ο Griffith χρησιμοποίησε δύο στελέχη του βακτηρίου πνευμονιόκοκκος (*Diplococcus pneumoniae*), τα οποία ξεχωρίζουν μορφολογικά, όταν καλλιεργηθούν σε θρεπτικό υλικό, λόγω της παρουσίας ή μη ενός προστατευτικού καλύμματος. Το στέλεχος που είχε κάλυμμα σχημάτιζε “λείες” αποικίες και ήταν παθογόνο, δηλαδή σκότωνε τα ποντίκια που μόλυνε, ενώ εκείνο που δεν είχε κάλυμμα σχημάτιζε “αδρές” αποικίες και δεν ήταν παθογόνο.

Ο Griffith χρησιμοποίησε υψηλή θερμοκρασία, για να σκοτώσει τα λεία βακτήρια και με αυτά μόλυνε ποντικούς,

Μία **αποικία** είναι ένα σύνολο από μικροοργανισμούς, που έχουν προέλθει από διαδοχικές διαιρέσεις ενός κυττάρου, όταν αυτό αναπτύσσεται σε στερεό θρεπτικό υλικό. Οι αποικίες είναι ορατές με γυμνό οφθαλμό.



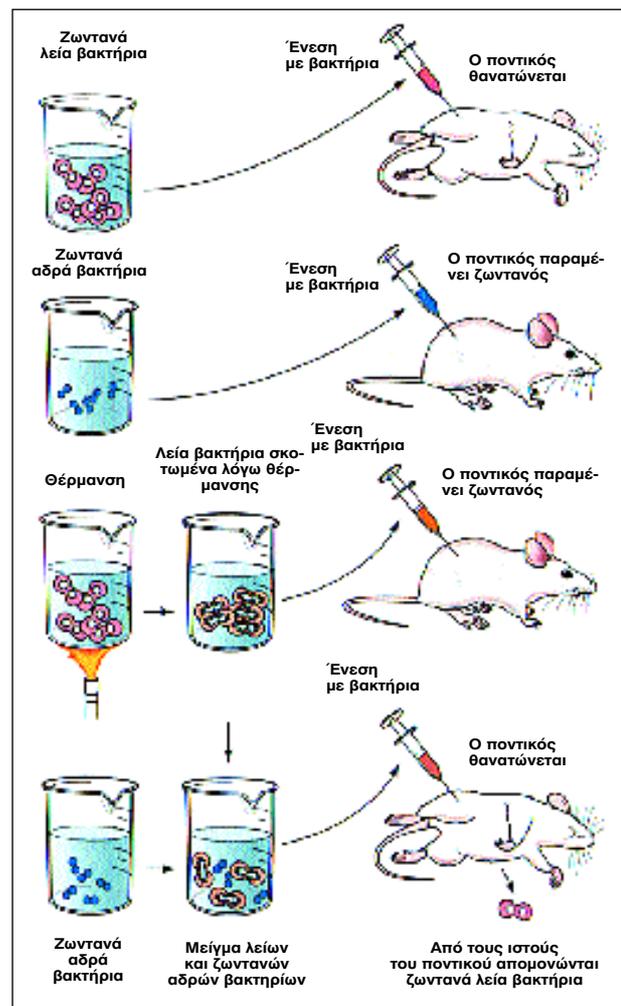
οι οποίοι παρέμεναν ζωντανοί. Όταν όμως ανέμιξε νεκρά λεία βακτήρια με ζωντανά αδρά και με το μείγμα μόλυνε ποντικούς, τότε αυτοί πέθαναν. Στο αίμα των νεκρών ποντικών βρέθηκαν ζωντανά λεία βακτήρια. Ο Griffith συμπέρανε ότι μερικά αδρά βακτήρια “μετασχηματίστηκαν” σε λεία παθογόνα ύστερα από αλληλεπίδραση με τα νεκρά λεία βακτήρια, αλλά δεν μπόρεσε να δώσει ικανοποιη-

τική απάντηση για το πώς γίνεται αυτό. (Εικόνα 1.1).

Η απάντηση δόθηκε το 1944, όταν οι Avery, Mac-Cleod και McCarthy επανέλαβαν τα πειράματα του Griffith *in vitro*. Οι ερευνητές διαχώρισαν τα συστατικά των νεκρών λείων βακτηρίων σε υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, λιπίδια, RNA, DNA κτλ. και έλεγξαν ποιο από αυτά είχε την ικανότητα μετασχηματισμού. Διαπίστωσαν ότι το συστατικό που προκαλούσε το μετασχηματισμό των αδρών βακτηρίων σε λεία ήταν το DNA. Την ίδια εποχή υπήρχαν πολλά βιοχημικά δεδομένα που υποστήριζαν ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό.

- Η ποσότητα του DNA σε κάθε οργανισμό είναι σταθερή και δε μεταβάλλεται από αλλαγές στο περιβάλλον. Η ποσότητα του DNA είναι επίσης ίδια σε όλα τα είδη κυττάρων ενός οργανισμού όπως στην περίπτωση του

**Εικόνα 1.1 Τα πειράματα του Griffith έδειξαν ότι ένας “ειδικός παράγοντας” που υπάρχει στα παθογόνα βακτήρια μετασχηματίζει τα μη παθογόνα σε παθογόνα ακόμη και αν τα παθογόνα βακτήρια έχουν σκοτωθεί λόγω θέρμανσης**

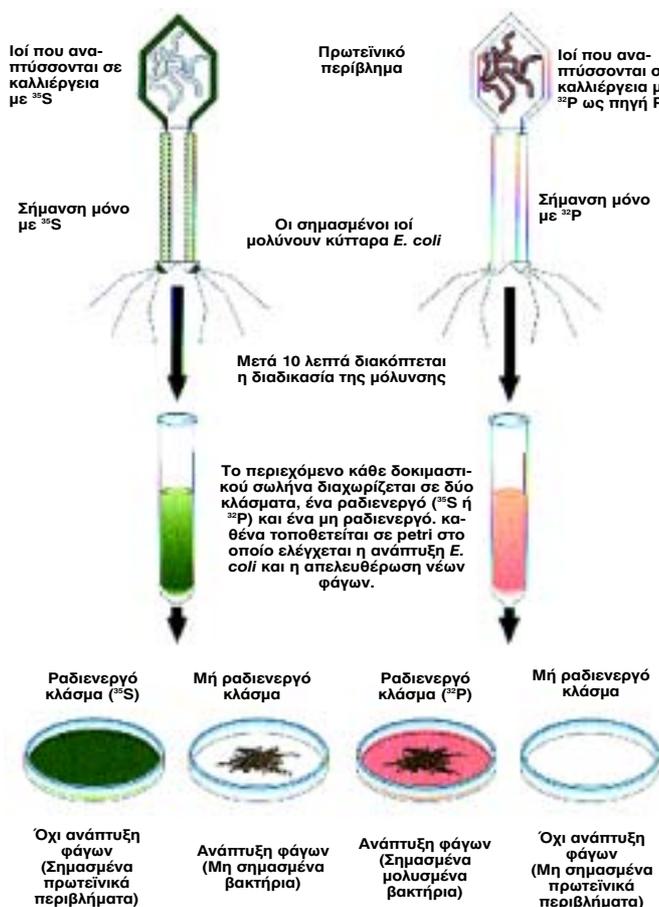


ανθρώπου σε αυτά του σπλήνα, της καρδιάς, του ήπατος κτλ.

- Οι γαμέτες των ανώτερων οργανισμών, που είναι απλοειδείς, περιέχουν τη μισή ποσότητα DNA από τα σωματικά κύτταρα, που είναι διπλοειδή.
- Η ποσότητα του DNA είναι, κατά κανόνα, ανάλογη με την πολυπλοκότητα του οργανισμού. Συνήθως, όσο εξελικτικά ανώτερος είναι ο οργανισμός τόσο περισσότερο DNA περιέχει σε κάθε κύτταρό του.

Η οριστική επιβεβαίωση ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό ήλθε το 1952 με τα κλασικά πειράματα των Hershey και Chase οι οποίοι μελέτησαν τον κύκλο ζωής του βακτηριοφάγου T<sub>2</sub>. Οι ερευνητές ιχνηθέτησαν τους φάγους με ραδιενεργό <sup>35</sup>S, που ανιχνεύει τις πρωτεΐνες αλλά όχι το DNA, και με ραδιενεργό <sup>32</sup>P, που ανιχνεύει το DNA αλλά όχι τις πρωτεΐνες. Στη συνέχεια με ραδιενεργούς φάγους μόλυναν βακτήρια. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μόνο το DNA των φάγων εισέρχεται στα βακτηριακά κύτταρα και είναι ικανό να “δώσει τις απαραίτητες εντολές”, για να πολλαπλασιαστούν και να παραχθούν οι νέοι φάγοι (Εικόνα 1.2).

**Εικόνα 1.2 Το πείραμα των Hershey και Chase απέδειξε ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό. Οι ερευνητές ιχνηθέτησαν τους φάγους με ραδιενεργό <sup>35</sup>S (που ανιχνεύει τις πρωτεΐνες) και με <sup>32</sup>P (που ανιχνεύει το DNA)**



Η έκφραση *in vivo* χρησιμοποιείται για την περιγραφή μίας βιολογικής διαδικασίας όταν αυτή πραγματοποιείται σε ένα ζωντανό οργανισμό.

Η έκφραση *in vitro* χρησιμοποιείται για την περιγραφή μίας βιολογικής διαδικασίας όταν αυτή πραγματοποιείται στον δοκιμαστικό σωλήνα.

Ένα τυπικό *in vivo* παράδειγμα είναι η απόδειξη του ημισυντηρητικού μηχανισμού της αντιγραφής του DNA. Αντίστοιχο *in vitro* παράδειγμα είναι η ανάλυση των ενζύμων της αντιγραφής του DNA.

**Ιχνηθέτηση.** Είναι η σήμανση χημικών μορίων με τη χρήση ραδιενεργών ισοτόπων, φθοριζουσών ουσιών, κ.τ.λ. Ένα τυπικό παράδειγμα είναι η χρήση ραδιενεργού φωσφόρου <sup>32</sup>P στα νουκλεοτίδια για την ιχνηθέτηση του DNA.

### Ταξίδι στο χρόνο

**1869.** Απομονώνεται DNA από τον κυτταρικό πυρήνα.

**1903.** Αποδεικνύεται ότι τα χρωμοσώματα είναι φορείς του κληρονομικού (γενετικού) υλικού.

**1944.** Αποδεικνύεται ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό.

**1953.** Ανακαλύπτεται η δομή της διπλής έλικας του DNA.

### Το DNA αποιεθεί από νουκλεοτίδια, που ενώνονται με φωσφοδιεστερικό δεσμό

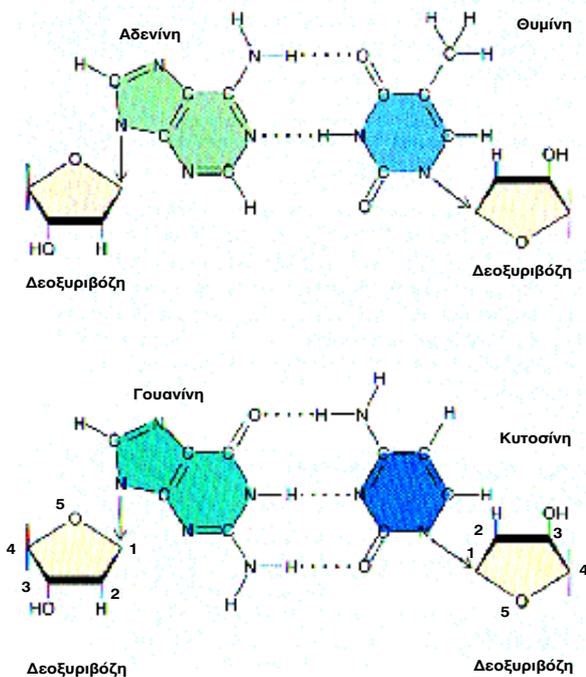
Το DNA, όπως και το RNA, είναι ένα μακρομόριο, που αποτελείται από **νουκλεοτίδια**. Κάθε νουκλεοτίδιο του DNA αποτελείται από μία πεντόζη, τη δεοξυριβόζη, ενωμένη με μια φωσφορική ομάδα και μια αζωτούχο βάση. Στα νουκλεοτίδια του DNA η αζωτούχος βάση μπορεί να είναι μια από τις: αδενίνη (A), γουανίνη (G), κυτοσίνη (C) και θυμίνη (T) (Εικόνα 1.3). Σε κάθε νουκλεοτίδιο η αζωτούχος βάση συνδέεται με τον 1' άνθρακα της δεοξυριβόζης και η φωσφορική ομάδα με τον 5' άνθρακα. Μια **πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα** σχηματίζεται από την ένωση πολλών νουκλεοτιδίων με ομοιοπολικό δεσμό. Ο δεσμός αυτός δημιουργείται μεταξύ του υδροξυλίου του 3' άνθρακα της πεντόζης του πρώτου νουκλεοτιδίου και της φωσφορικής ομάδας που είναι συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόζης του επόμενου νουκλεοτιδίου. Ο δεσμός αυτός ονομάζεται **3' - 5' φωσφοδιεστερικός δεσμός**. Με τον τρόπο αυτό η πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα που δημιουργείται έχει ένα σκελετό, που αποτελείται από επανάληψη των μορίων φωσφορι-

κή ομάδα-πεντόζη-φωσφορική ομάδα-πεντόζη. Ανεξάρτητα από τον αριθμό των νουκλεοτιδίων από τα οποία αποτελείται η πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα, το πρώτο της νουκλεοτίδιο έχει πάντα μια ελεύθερη φωσφορική ομάδα συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόζης του και το τελευταίο νουκλεοτίδιο της έχει ελεύθερο το υδροξύλιο του 3' άνθρακα της πεντόζης του. Για το λόγο αυτό αναφέρεται ότι ο προσανατολισμός της πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας είναι 5'→3' (Εικόνα 1.4).

### Η ανακάλυψη της διπλής έλικας του DNA είναι η μεγαλύτερη βιολογική ανακάλυψη του 20ου αιώνα

Παρ' ότι η χημική σύσταση και οι ιδιότητες του DNA, με τα πειράματα που αναφέρθηκαν πιο πάνω, είχαν γίνει γνωστά, δεν υπήρχε κοινά αποδεκτή πρόταση για τη δομή του DNA στο χώρο. Δεδομένα από την ανάλυση του ποσοστού των βάσεων σε μόρια DNA από διαφορετικούς οργανισμούς έδειχναν ότι σε κάθε μόριο DNA ο αριθμός των νουκλεοτιδίων που έχουν ως βάση την αδενίνη είναι ίσος με τον αριθμό των νουκλεοτιδίων που έχουν θυμίνη, και ο αριθμός των νουκλεοτιδίων που έχουν ως βάση την γουανίνη είναι ίσος με τον αριθμό αυτών που έχουν κυτοσίνη. Δηλαδή ισχύει A=T και G=C. Επίσης, βρέθηκε ότι η αναλογία των βάσεων δια-

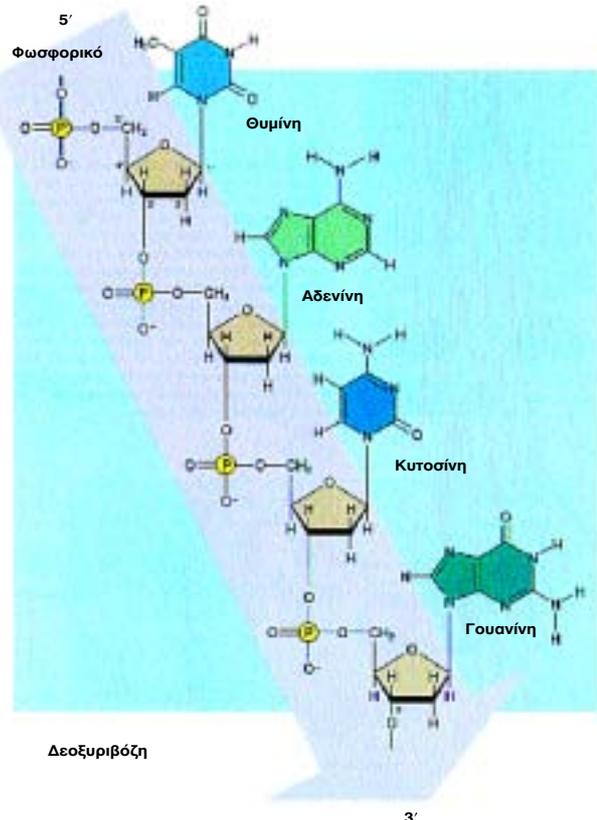
Εικόνα 1.3. Οι τέσσερις αζωτούχες βάσεις του DNA. Η αδενίνη συνδέεται με την θυμίνη με δύο υδρογονικούς δεσμούς και η γουανίνη συνδέεται με την κυτοσίνη με τρεις υδρογονικούς δεσμούς.

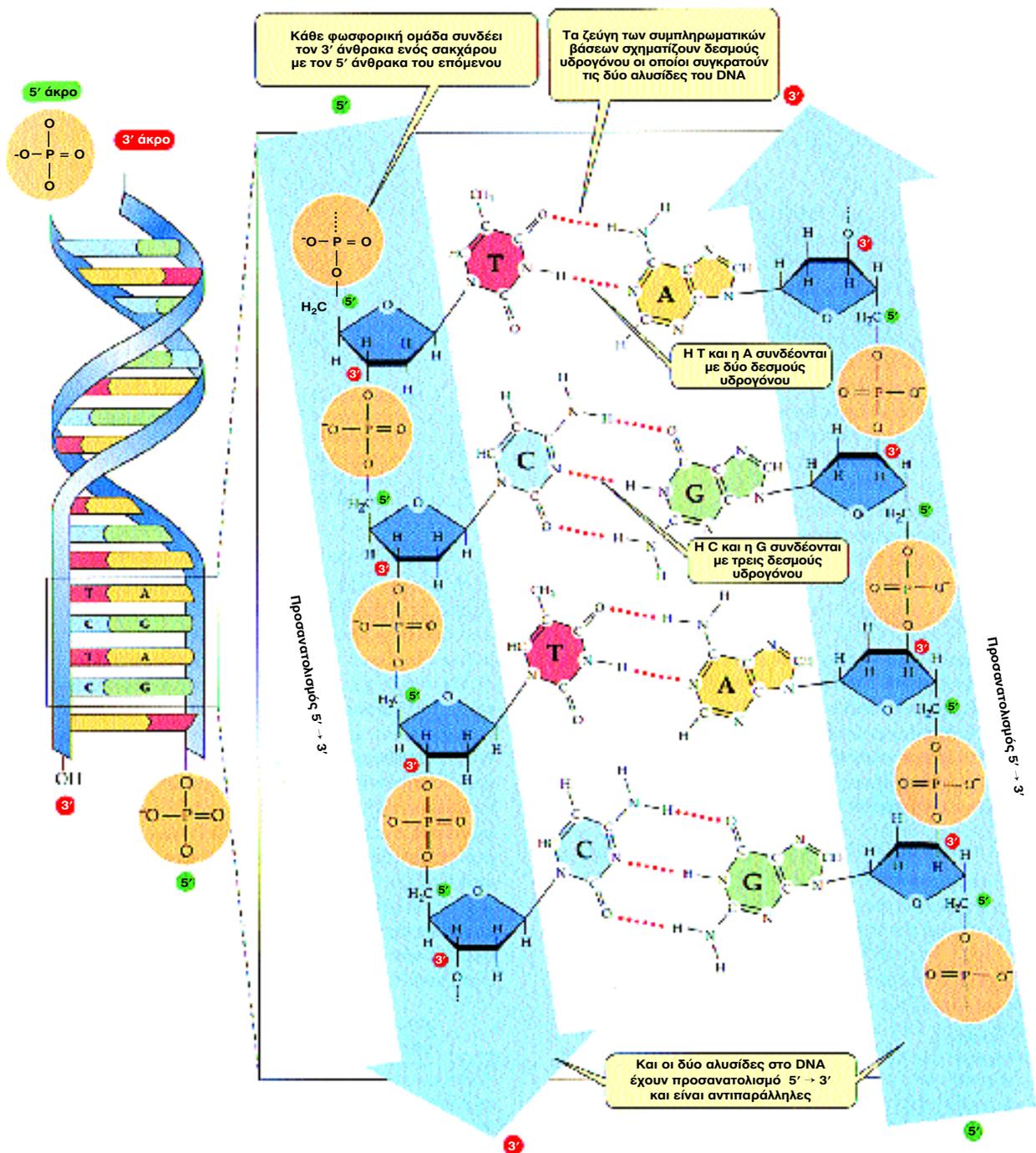


φέρει από είδος σε είδος και σχετίζεται με το είδος του οργανισμού. Τα αποτελέσματα αυτά σε συνδυασμό με αποτελέσματα που αφορούσαν την απεικόνιση του μορίου του DNA με χρήση ακτίνων-X βοήθησαν στην ανακάλυψη της διπλής έλικας του DNA και απέδειξαν τις μοναδικές ιδιότητές του που το καθιστούν μόριο ιδανικό ως γενετικό υλικό. Η ανακάλυψη της διπλής έλικας του DNA είναι η μεγαλύτερη βιολογική ανακάλυψη του 20ού αιώνα. Έγινε το 1953 και ήταν το αποτέλεσμα της ερευνητικής εργασίας δύο ομάδων επιστημόνων: των Wilkins και Franklin καθώς και των Watson και Crick. Στηριζόμενοι στο σύνολο των αποτελεσμάτων των δύο ομάδων οι Watson και Crick διατύπωσαν το μοντέλο της **διπλής έλικας του DNA**, που αναφέρεται στη δομή του DNA στο χώρο (Εικόνα 1.5). Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό:

- Το DNA αποτελείται από δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες που σχηματίζουν στο χώρο μία δεξιόστροφη διπλή έλικα.
- Η διπλή έλικα έχει ένα σταθερό σκελετό, που αποτελείται από επαναλαμβανόμενα μόρια φωσφορικής ομάδας - δεοξυριβόζης ενωμένων με φωσφοδιεστερικό δεσμό. Ο σκελετός αυτός είναι υδρόφιλος και βρίσκεται στο εξωτερικό του μορίου. Προς το εσωτερικό του

Εικόνα 1.4 Το βέλος δείχνει τον φωσφοδιεστερικό σκελετό με προσανατολισμό 5'-3'.





Εικόνα 1.5 Δίκλωνη έλικα του DNA.

σταθερού αυτού σκελετού βρίσκονται οι αζωτούχες βάσεις που είναι υδρόφοβες.

- Οι αζωτούχες βάσεις της μιας αλυσίδας συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου με τις αζωτούχες βάσεις της απέναντι αλυσίδας με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας. Η αδενίνη συνδέεται μόνο με θυμίνη και αντίστροφα, ενώ η κυτοσίνη μόνο με γουανίνη και αντί-

στροφα. Οι δεσμοί υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των βάσεων σταθεροποιούν τη δευτεροταγή δομή του μορίου.

- Ανάμεσα στην αδενίνη και στη θυμίνη σχηματίζονται δύο δεσμοί υδρογόνου, ενώ ανάμεσα στη γουανίνη και στην κυτοσίνη σχηματίζονται τρεις δεσμοί υδρογόνου.
- Οι δύο αλυσίδες ενός μορίου DNA είναι συμπληρωματι-

κές, και αυτό υποδηλώνει ότι η αλληλουχία της μιας καθορίζει την αλληλουχία της άλλης. Η συμπληρωματικότητα έχει τεράστια σημασία για τον αυτοδιπλασιασμό του DNA, μια ιδιότητα που το καθιστά το καταλληλότερο μόριο για τη διατήρηση και τη μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας. Κάθε αλυσίδα DNA μπορεί να χρησιμεύει ως καλούπι για τη σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλυσίδας, ώστε τελικά να σχηματίζονται δύο δίκλιωνα μόρια DNA πανομοιότυπα με το μητρικό μόριο.

- Οι δύο αλυσίδες είναι αντιπαράλληλες, δηλαδή το 3' άκρο της μίας είναι απέναντι από το 5' άκρο της άλλης.

### Το γενετικό υλικό ελέγχει όλες τις λειτουργίες του κυττάρου

Το DNA αποτελεί το γενετικό υλικό όλων των κυττάρων και των περισσότερων ιών. Κάποιοι ιοί έχουν ως γενετικό υλικό RNA (RNA-ιοί).

Συνοπτικά οι λειτουργίες του γενετικού υλικού είναι:

- Η αποθήκευση της γενετικής πληροφορίας. Στο DNA (ή στο RNA των RNA ιών) περιέχονται οι πληροφορίες που καθορίζουν όλα τα χαρακτηριστικά ενός οργανισμού και οι οποίες οργανώνονται σε λειτουργικές μονάδες, τα **γονίδια**.
- Η διατήρηση και η μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας από κύτταρο σε κύτταρο και από οργανισμό σε οργανισμό, που εξασφαλίζονται με τον αυτοδιπλασιασμό του DNA.
- Η έκφραση των γενετικών πληροφοριών, που επιτυγχάνεται με τον έλεγχο της σύνθεσης των πρωτεϊνών.

Το γενετικό υλικό ενός κυττάρου αποτελεί το **γονιδίωμά** του. Τα κύτταρα στα οποία το γονιδίωμα υπάρχει σε ένα μόνο αντίγραφο, όπως είναι τα προκαρυωτικά κύτταρα και οι γαμέτες των διπλοειδών οργανισμών, ονομάζονται **απλοειδή**. Τα κύτταρα στα οποία το γονιδίωμα υπάρχει σε δύο αντίγραφα, όπως είναι τα σωματικά κύτταρα των ανώτερων ευκαρυωτικών οργανισμών, ονομάζονται **διπλοειδή**. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα το γενετικό υλικό κατανέμεται στον πυρήνα, στα μιτοχόνδρια και στους χλωροπλάστες. Συνήθως όμως ο όρος γονιδίωμα ανα-

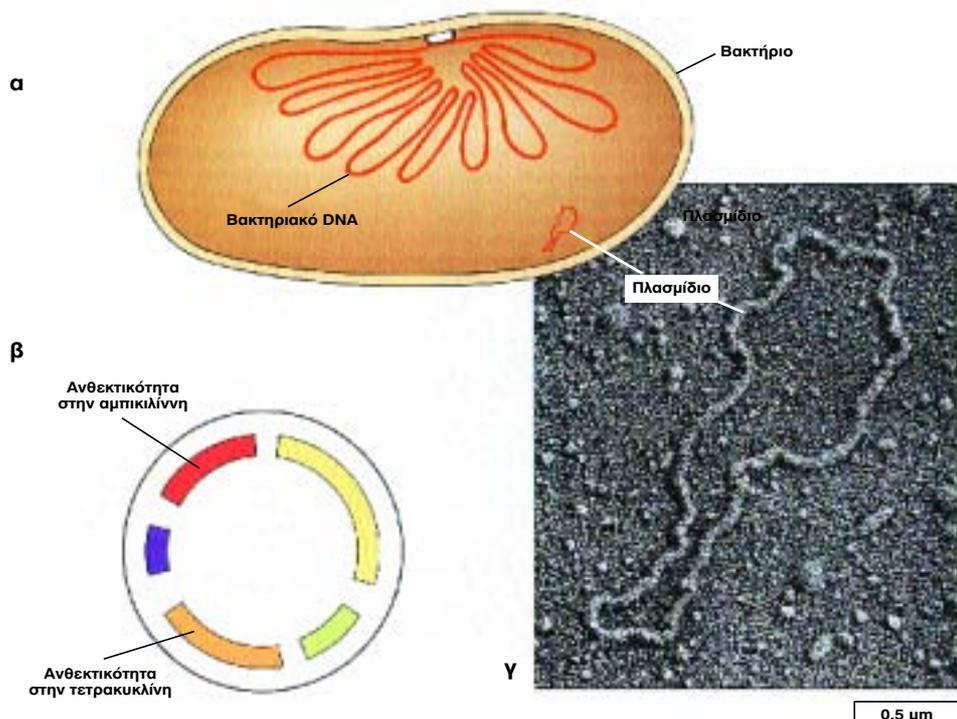
φέρεται στο γενετικό υλικό που βρίσκεται στον πυρήνα.

Για την περιγραφή του μήκους ή της αλληλουχίας ενός νουκλεϊκού οξέος χρησιμοποιείται ο όρος **αριθμός ή αλληλουχία βάσεων** αντίστοιχα. Στην πραγματικότητα εννοούμε τον αριθμό ή την ακολουθία των νουκλεοτιδίων του νουκλεϊκού οξέος. Η απλούστευση αυτή γίνεται γιατί το μόνο τμήμα του νουκλεοτιδίου που αλλάζει είναι η αζωτούχος βάση. Έτσι αναφέρεται ότι ένα μόριο DNA έχει μήκος 2.000 ζεύγη βάσεων, επειδή είναι δίκλινο, ενώ ένα μόριο mRNA έχει μήκος 2.000 βάσεις επειδή είναι μονόκλινο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.1: Μέγεθος γονιδιώματος διάφορων οργανισμών

Οργανισμός	Συνολικό DNA (σε ζεύγη βάσεων)	Αριθμός χρωμοσωμάτων (απλοειδές κύτταρο)
<i>Zea mays</i> (καλαμπόκι)	$5 \times 10^9$	10
<i>Homo sapiens</i>	$3 \times 10^9$	23
<i>Drosophila melanogaster</i>	$1.6 \times 10^8$	4
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	$1.4 \times 10^7$	16
<i>Escherichia coli</i>	$4 \times 10^6$	1

Εικόνα 1.6 α. Το βακτηριακό κύτταρο έχει ένα κυκλικό μόριο DNA το οποίο είναι συνδεδεμένο στο εσωτερικό τμήμα της κυτταρικής μεμβράνης. β. Έχει επίσης ένα μικρό κυκλικό μόριο DNA, το πλασμίδιο, το οποίο έχει γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά γ. Φωτογραφία του πλασμιδίου στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.



## Το γενετικό υλικό των προκαρυωτικών κυττάρων είναι ένα κυκλικό μόριο DNA

Το γενετικό υλικό των προκαρυωτικών κυττάρων είναι ένα **δίκλωνο κυκλικό μόριο DNA** μήκους περίπου 1 μm. Το κυκλικό αυτό μόριο DNA αναδιπλώνεται και πακετάρεται με τη βοήθεια κυρίως πρωτεϊνών με αποτέλεσμα να έχει τελικό μήκος στο κύτταρο 1μm. Περιέχει ένα αντίγραφο του γονιδιώματος, άρα τα προκαρυωτικά κύτταρα είναι απλοειδή.

Στα βακτήρια, εκτός από το κύριο κυκλικό μόριο DNA, υπάρχουν και τα **πλασμίδια** (Εικόνα 1.6). Τα πλασμίδια είναι δίκλινα, κυκλικά μόρια DNA με διάφορα μεγέθη. Περιέχουν μικρό ποσοστό της γενετικής πληροφορίας και αποτελούν το 1 - 2% του βακτηριακού DNA. Ένα βακτήριο μπορεί να περιέχει ένα ή περισσότερα πλασμίδια, τα οποία αντιγράφονται ανεξάρτητα από το κύριο μόριο DNA του βακτηρίου. Μεταξύ των γονιδίων που περιέχονται στα πλασμίδια υπάρχουν γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά και γονίδια που σχετίζονται με τη μεταφορά γενετικού υλικού από ένα βακτήριο σε άλλο. Τα πλασμίδια έχουν τη δυνατότητα να ανταλλάσσουν γενετικό υλικό τόσο μεταξύ τους όσο και με το κύριο μόριο DNA του βακτηρίου, καθώς και να μεταφέρονται από ένα βακτήριο σε άλλο. Με τον τρόπο αυτό μετασχηματίζουν το βακτήριο στο οποίο εισέρχονται και του προσδίδουν καινούριες ιδιότητες. Τα πλασμίδια αποτελούν πολύτιμο εργαλείο των τεχνικών της Γενετικής Μηχανικής, όπως θα αναλυθεί στο κεφάλαιο του ανασυνδυασμένου DNA.

## Το γενετικό υλικό των ευκαρυωτικών οργανισμών έχει πολύπλοκη οργάνωση

Το γενετικό υλικό των ευκαρυωτικών κυττάρων έχει μεγαλύτερο μήκος από αυτό των προκαρυωτικών. Το συνολικό DNA που υπάρχει σε κάθε ευκαρυωτικό κύτταρο δεν είναι ένα ενιαίο μόριο, αλλά αποτελείται από πολλά ευθύγραμμα κομμάτια, ο αριθμός και το μήκος των οποίων είναι χαρακτηριστικά για τα διάφορα είδη των οργανισμών. Τα κομμάτια του DNA πακετάρονται με πρωτεΐνες και σχηματίζουν τα ινίδια χρωματίνης. Τα ινίδια αναδιπλώνονται και δημιουργούν τα χρωμοσώματα. Το συνολικό DNA στα διπλοειδή κύτταρα του ανθρώπου έχει μήκος περίπου 2 m και συσπειρώνεται σε τέτοιο βαθμό, ώστε να χωράει στον πυρήνα, που έχει διάμετρο δέκα εκατομμυριστά του μέτρου!

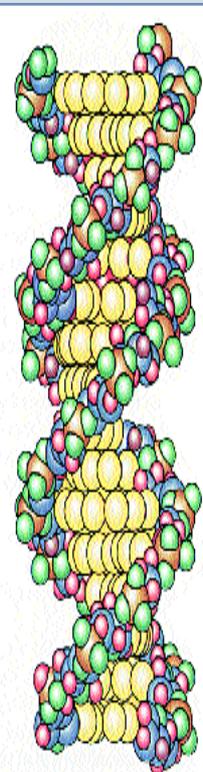
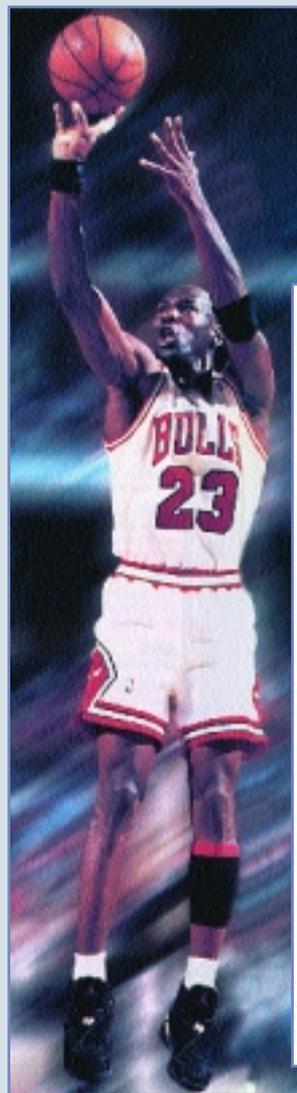
Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, ύστερα από ειδική επεξεργασία, τα ινίδια χρωματίνης μοιάζουν με κομπολόγια από χάντρες. Κάθε "χάντρα" ονομάζεται **νουκλεόσωμα** και αποτελεί τη βασική μονάδα οργάνωσης της χρωματίνης. Το νουκλεόσωμα αποτελείται από DNA μήκους 146 ζευγών βάσεων και από οκτώ μόρια πρωτεϊνών, που ονομάζονται ι-

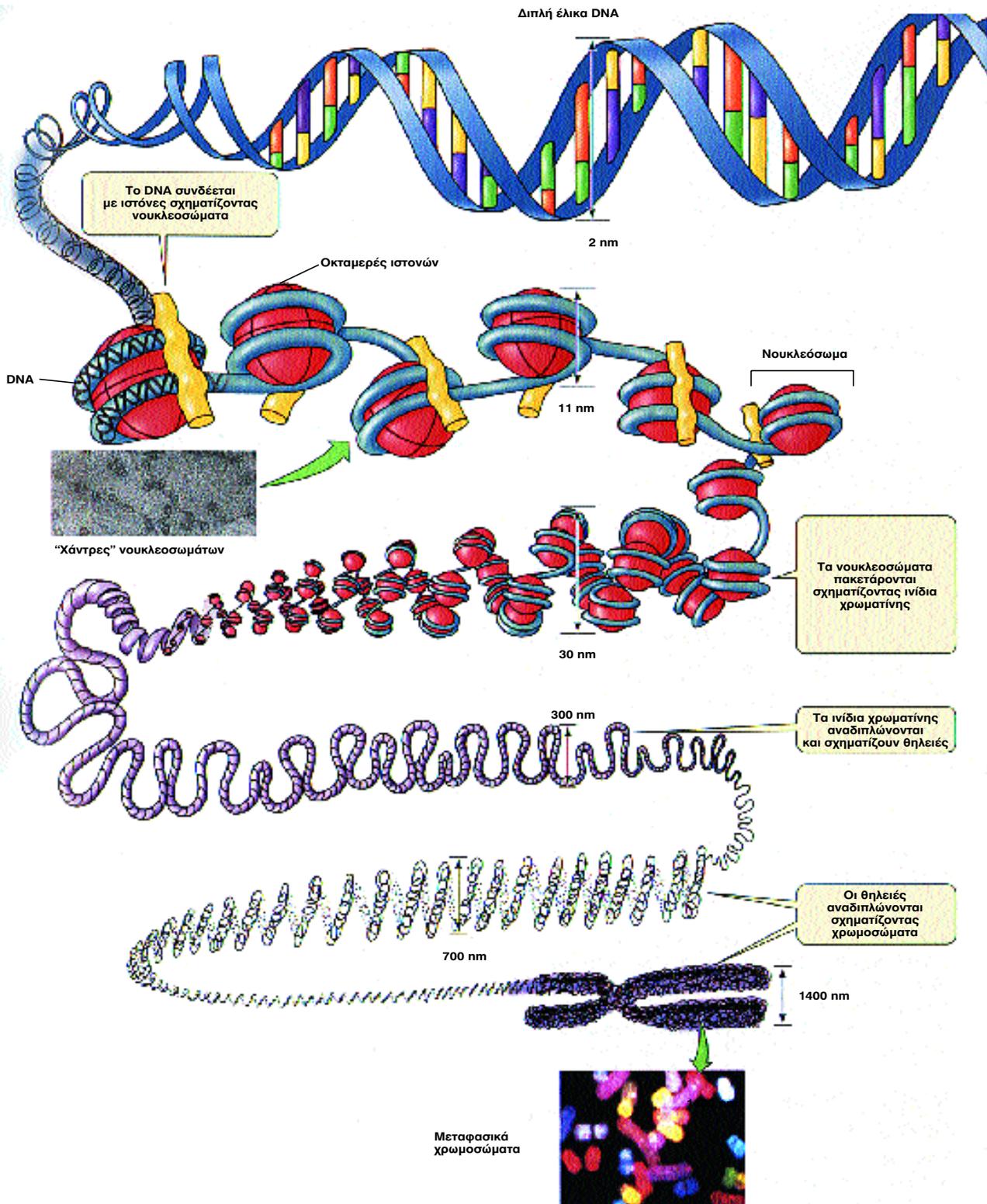
στόνες. Το DNA είναι τυλιγμένο γύρω από το οκταμερές των ιστονών (Εικόνα 1.7). Τα νουκλεοσώματα αναδιπλώνονται με αποτέλεσμα το DNA να πακετάρεται σε μεγαλύτερο βαθμό, σχηματίζοντας τελικά τα ινίδια της χρωματίνης. Στην αναδίπλωση συμμετέχουν και άλλα είδη πρωτεϊνών, οι **μη-ιστόνες**.

Αν παρατηρήσουμε το γενετικό υλικό ενός ευκαρυωτικού κυττάρου, βλέπουμε ότι εμφανίζεται με διαφορετικές χαρακτηριστικές μορφές, ανάλογα με το στάδιο του **κυτταρικού κύκλου**. Κατά τη μεσόφαση τα χρωμοσώματα

### Η Μοριακή Βιολογία με αριθμούς

Εάν ξεδιπλώναμε το DNA του πυρήνα ενός σωματικού κυττάρου του ανθρώπου, αυτό θα έφτανε τα 2 m, όσο είναι δηλαδή το ύψος του διασημότερου καλαθοσφαιριστή που «πάτησε» στα γήπεδα του πλανήτη μας, του Air-Michael Jordan.



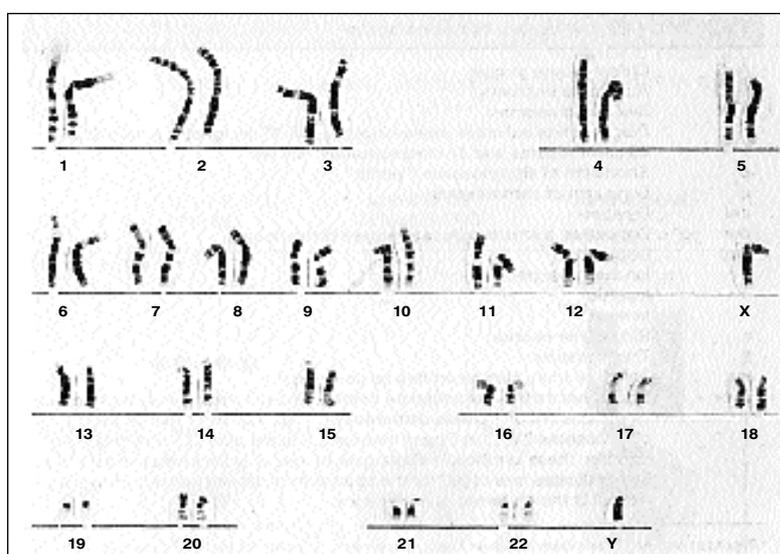


Εικόνα 1.7 Επίπεδα πακεταρίσματος του DNA στο μιτωτικό χρωμόσωμα. Στο κάτω μέρος της εικόνας φαίνονται μιτωτικά χρωμοσώματα στο οπτικό μικροσκόπιο.

έχουν μικρό βαθμό συσπειρώσεως και σχηματίζουν δίκτυο ινιδίων χρωματίνης. Κατά συνέπεια δεν είναι ορατά με το οπτικό μικροσκόπιο. Στο στάδιο της αντιγραφής του DNA παράγονται δύο θυγατρικά μόρια, τα οποία οργανώνονται σε ινίδια χρωματίνης. Τα δύο θυγατρικά ινίδια χρωματίνης παραμένουν ενωμένα σε ένα σημείο, το **κεντρομερίδιο**. Κατά τη μίτωση τα ινίδια χρωματίνης συσπειρώνονται σε μεγαλύτερο βαθμό και σχηματίζουν τις δύο **αδελφές χρωματίδες** του χρωμοσώματος. Ο υψηλός βαθμός συσπειρώσεως του DNA στα χρωμοσώματα στο στάδιο της μετάφασης τα καθιστά ευδιάκριτα και μπορούν εύκολα να παρατηρηθούν με το οπτικό μικροσκόπιο (Εικόνα 1.7). Στο τέλος της μίτωσης προκύπτουν δύο νέα κύτταρα, γενετικά όμοια μεταξύ τους, και με το αρχικό, αφού το καθένα περιέχει τη μία από τις δύο αδελφές χρωματίδες. Πρέπει να προσέξουμε ότι ο όρος αδελφές χρωματίδες χρησιμοποιείται, για να περιγράψει τα διπλασιασμένα χρωμοσώματα κατά το χρονικό διάστημα που είναι συνδεδεμένα στο κεντρομερίδιο.

Θα μπορούσαμε να πούμε ότι τα ινίδια της χρωματίνης, τα χρωμοσώματα και οι χρωματίδες αποτελούν “διαφορετικές όψεις του ίδιου νομίσματος”. Τα ινίδια της χρωματίνης διπλασιάζονται στη μεσόφαση, συσπειρώνονται και εμφανίζονται ως αδελφές χρωματίδες των χρωμοσωμάτων στη μίτωση. Κατά το τέλος της μίτωσης αποχωρίζονται πλήρως, αποσυσπειρώνονται σταδιακά και εμφανίζονται πάλι ως ινίδια χρωματίνης στο μεσοφασικό πυρήνα των νέων κυττάρων κ.ο.κ. Παρ’όλες όμως τις μορφολογικές αυτές μεταβολές η χημική σύσταση του γενετικού υλικού παραμένει αμετάβλητη.

Εικόνα 1.8 Καρυότυπος φυσιολογικού άρρενος (χρώση G).



## Παρατήρηση των χρωμοσωμάτων του ανθρώπου - Καρυότυπος

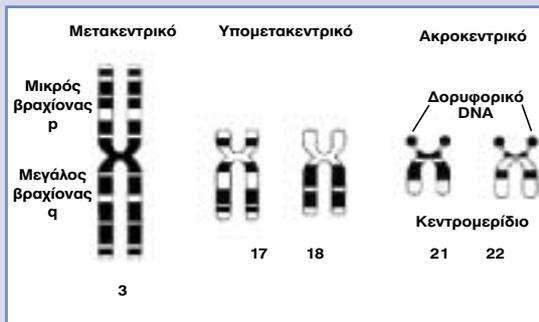
Το ανθρώπινο γονιδίωμα σε ένα απλοειδές κύτταρο αποτελείται από περίπου  $3 \times 10^9$  ζεύγη βάσεων DNA, που είναι οργανωμένα σε 23 χρωμοσώματα. Η μελέτη των χρωμοσωμάτων είναι δυνατή μόνο σε κύτταρα τα οποία διαιρούνται. Τα κύτταρα αυτά μπορεί να προέρχονται είτε από ιστούς που διαιρούνται φυσιολογικά είτε από κυτταροκαλλιέργειες, όπου γίνεται *in vitro* επαγωγή της διαίρεσης με ουσίες που έχουν μιτογόνο δράση. Τα χρωμοσώματα μελετώνται στο στάδιο της μετάφασης, όπου εμφανίζουν το μεγαλύτερο βαθμό συσπειρώσεως και είναι ευδιάκριτα. Επειδή σε ένα πληθυσμό διαιρούμενων κυττάρων το ποσοστό αυτών που βρίσκονται στη μετάφαση είναι μικρό, χρησιμοποιούνται ουσίες οι οποίες σταματούν την κυτταρική διαίρεση στη φάση αυτή. Στη συνέχεια τα κύτταρα επωάζονται σε υποτονικό διάλυμα, ώστε να σπάσει η κυτταρική τους μεμβράνη, και τα χρωμοσώματά τους απλώνονται σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Τέλος, χρωματίζονται με ειδικές χρωστικές ουσίες και παρατηρούνται στο μικροσκόπιο.

Κάθε φυσιολογικό μεταφασικό χρωμόσωμα αποτελείται από δύο αδελφές χρωματίδες, οι οποίες συγκρατούνται στο κεντρομερίδιο. Το κεντρομερίδιο “διαιρεί” κάθε χρωματίδα σε δύο βραχίονες, ένα μεγάλο και ένα μικρό. Τα μεταφασικά χρωμοσώματα ενός κυττάρου διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το μέγεθος και ως προς τη θέση του κεντρομεριδίου. Τα χρωμοσώματα ταξινομούνται σε ζεύγη κατά ελαττούμενο μέγεθος. Η απεικόνιση αυτή αποτελεί τον **καρυότυπο** (Εικόνα 1.8). Ο αριθμός και η μορφολογία των χρωμοσωμάτων είναι ιδιαίτερο χαρακτηριστικό κάθε είδους. Στον άνθρωπο τα φυσιολογικά αρσενικά και θηλυκά άτομα έχουν στον πυρήνα των σωματικών τους κυττάρων 23 ζεύγη **ομόλογων χρωμοσωμάτων**. Το ένα χρωμόσωμα κάθε ζεύγους είναι πατρικής και το άλλο μητρικής προέλευσης και ελέγχουν τα ίδια χαρακτηριστικά. Από τα 23 ζεύγη τα 22 είναι

μορφολογικά ίδια στα αρσενικά και στα θηλυκά άτομα και ονομάζονται **αυτοσωμικά χρωμοσώματα**. Το 23<sup>ο</sup> ζεύγος στα θηλυκά άτομα αποτελείται από δύο X χρωμοσώματα, ενώ στα αρσενικά από ένα X και ένα Y χρωμόσωμα. Το Y χρωμόσωμα είναι μικρότερο σε μέγεθος από το X. Τα χρωμοσώματα αυτά ονομάζονται **φυλετικά**, σε πολλούς οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου, καθορίζουν το φύλο. Στον άνθρωπο η παρουσία του Y χρωμοσώματος καθορίζει το αρσενικό άτομο, ενώ η απουσία του το θηλυκό άτομο. Έτσι, ένα φυσιολογικό αρσενικό άτομο έχει 44 αυτοσωμικά χρωμοσώματα και ένα ζεύγος XY, ενώ ένα φυσιολογικό θηλυκό 44 αυτοσωμικά και ένα ζεύγος XX.

Η θέση του κεντρομεριδίου καθορίζει το σχήμα του χρωμοσώματος

Όταν το κεντρομερίδιο βρίσκεται περίπου στο μέσον του χρωμοσώματος, το χρωμόσωμα αυτό ονομάζεται **μετακεντρικό** (π.χ. στον άνθρωπο το χρωμόσωμα 1). Όταν το κεντρομερίδιο βρίσκεται κοντά στο άκρο, το χρωμόσωμα ονομάζεται **ακροκεντρικό** (π.χ. το χρωμόσωμα 13). Τέλος, όταν το κεντρομερίδιο βρίσκεται σε ενδιάμεση θέση, το χρωμόσωμα λέγεται **υπομετακεντρικό** (π.χ. το χρωμόσωμα 4).



### Ταξίδι στο χρόνο

Το 1952 οι Hsu και Pomerat χρησιμοποίησαν υποτονικό διάλυμα και το αλκαλοειδές κολχικίνη, που σταματά τη διαίρεση στη μετάφαση, για την ανάλυση των χρωμοσωμάτων.

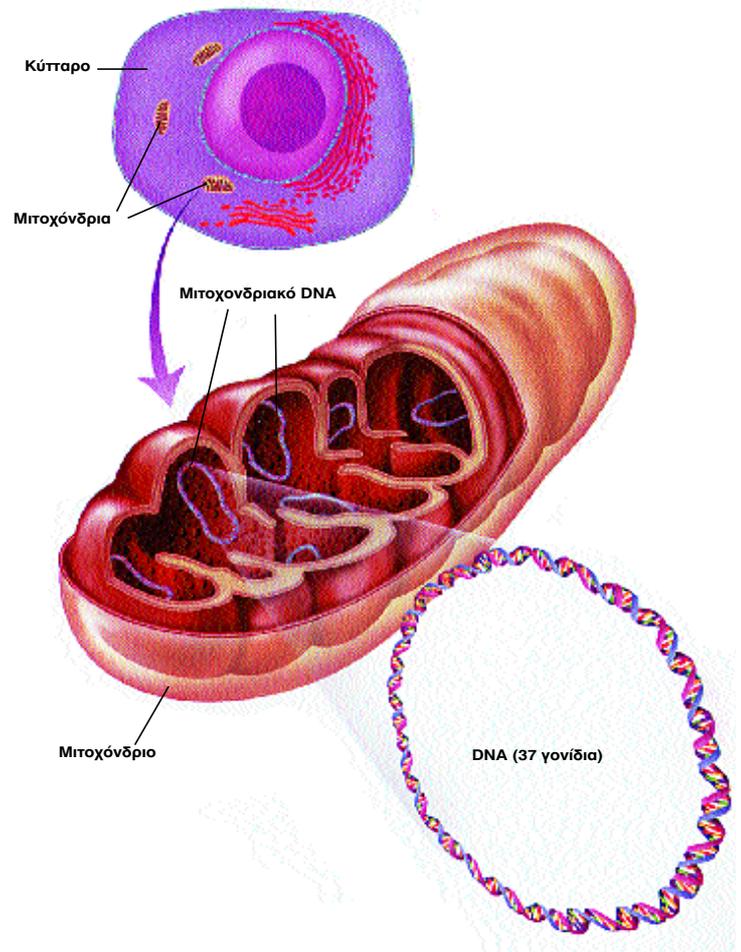
Το 1960 οι Nowel, Moorehead και Hungerford επιτυγχάνουν να καλλιεργήσουν λεμφοκύτταρα με χρήση φυτοαιμαγλουτινίνης στο εργαστήριο. Το 1960 πραγματοποιείται στο Denver διάσκεψη και καθορίζεται το σύστημα ονοματολογίας των ανθρώπινων μεταφασικών χρωμοσωμάτων.

Το 1970 ο Caspersson, χρησιμοποιώντας τη χρωστική κινακρίνη, επιτυγχάνει την δημιουργία ζωνών στα χρωμοσώματα (ζώνες-Q).

Το 1971 στη διάσκεψη που πραγματοποιήθηκε στο Παρίσι καθορίζεται το πρότυπο των ζωνών των ανθρώπινων μεταφασικών χρωμοσωμάτων.

### Τα μιτοχόνδρια και οι χλωροπλάστες έχουν το δικό τους γενετικό υλικό

Τα μιτοχόνδρια και οι χλωροπλάστες έχουν DNA. Το γενετικό υλικό των μιτοχονδρίων και των χλωροπλαστών περιέχει πληροφορίες σχετικές με τη λειτουργία τους, δηλαδή σχετικά με την οξειδωτική φωσφορυλίωση και τη φωτοσύνθεση αντίστοιχα, και κωδικοποιεί μικρό αριθμό



**Εικόνα 1.9** Ένα μιτοχόνδριο περιέχει πολλά μόρια κυκλικού DNA.

πρωτεϊνών. Οι περισσότερες όμως πρωτεΐνες που είναι απαραίτητες για τη λειτουργία των μιτοχονδρίων και των χλωροπλαστών κωδικοποιούνται από γονίδια που βρίσκονται στο DNA του πυρήνα. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι τα όργανα αυτά δεν είναι ανεξάρτητα από τον πυρήνα του κυττάρου και για το λόγο αυτό χαρακτηρίζονται ως **ημιαυτόνομα**. Η διαίρεση των οργανιδίων αυτών δε γίνεται συγχρόνως με τη διαίρεση των κυττάρων αλλά σε όλη τη διάρκεια της μεσόφασης, και ο ρυθμός της εξαρτάται από τις ανάγκες του κυττάρου.

Το μιτοχονδριακό DNA στους περισσότερους οργανισμούς είναι κυκλικό μόριο (Εικόνα 1.9). Σε ορισμένα όμως κατώτερα πρωτόζωα είναι γραμμικό. Το ζυγωτό των ανώτερων οργανισμών περιέχει μόνο τα μιτοχόνδρια που προέρχονται από το ωάριο. Επομένως, η προέλευση των μιτοχονδριακών γονιδίων είναι μητρική.

Το DNA των χλωροπλαστών είναι κυκλικό μόριο και έχει μεγαλύτερο μέγεθος από το μιτοχονδριακό DNA.

### Μιτοχονδριακές ασθένειες και γήρανση

Κάθε κύτταρο περιέχει εκατοντάδες μιτοχόνδρια και κάθε μιτοχόνδριο έχει δύο έως δέκα αντιγράφου του κυκλικού μιτοχονδριακού DNA. Έτσι, συνολικά κάθε κύτταρο μπορεί να έχει μέχρι και 10.000 μόρια κυκλικού μιτοχονδριακού DNA. Οι μεταλλάξεις που συμβαίνουν σ' αυτό οδηγούν σε πολύ σοβαρές ασθένειες, που προκαλούν βλάβες στο κεντρικό νευρικό σύστημα, στην καρδιά και στο μυϊκό σύστημα. Ο τρόπος κληρονόμησής τους είναι ιδιαίτερα πολύπλοκος.

Στον ανθρώπινο οργανισμό, με την πάροδο του χρόνου συσσωρεύονται στο μιτοχονδριακό DNA πολλές μεταλλάξεις από τοξικές ουσίες και ιδιαίτερα από ελεύθερες ρίζες. Λόγω των μεταλλάξεων, τα ένζυμα που παράγονται από το μιτοχονδριακό DNA και συμμετέχουν στις αντιδράσεις της αναπνευστικής αλυσίδας, παύουν να λειτουργούν σωστά. Γι' αυτό με την ηλικία προκαλείται μυϊκή καχεξία, απώλεια της όρασης και της ακοής κ.ά. Πιστεύεται ότι η συμπλήρωση της διατροφής μας με αντιοξειδωτικούς παράγοντες όπως η βιταμίνη C μπορεί να καθυστερήσει τη διαδικασία της γήρανσης.

### Οι ιοί έχουν γενετικό υλικό DNA ή RNA

Οι ιοί περιέχουν ένα μόνο είδος νουκλεϊκού οξέος, το οποίο μπορεί να είναι DNA ή RNA. Το DNA των ιών μπορεί να είναι μονόκλωνο ή δίκλωνο, γραμμικό ή κυκλικό. Οι RNA -ιοί έχουν συνήθως γραμμικό RNA (σε σπάνιες περιπτώσεις είναι κυκλικό), το οποίο μπορεί να είναι μονόκλωνο ή δίκλωνο. Οι ιοί και ο κύκλος ζωής τους θα αναλυθούν στο αντίστοιχο κεφάλαιο.

### Περίληψη

Το DNA, με εξαίρεση τους RNA ιούς, είναι το γενετικό υλικό σε όλους τους οργανισμούς. Σύμφωνα με το μοντέλο των Watson και Crick το DNA αποτελείται από δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες, που σχηματίζουν διπλή έλικα. Οι δύο αλυσίδες του DNA είναι συμπληρωματικές μεταξύ τους, δηλαδή απέναντι από κάθε T βρίσκεται A και αντίστροφα, ενώ απέναντι από κάθε G βρίσκεται C και αντίστροφα. Η ποσότητα του DNA διαφέρει από οργανισμό σε οργανισμό.

Το DNA περιέχει όλες τις πληροφορίες που είναι απαραίτητες για τις λειτουργίες του οργανισμού, σε μονάδες πληροφορίας που ονομάζονται γονίδια.

Τα προκαρυωτικά κύτταρα έχουν ένα κύριο κυκλικό μόριο DNA και μερικές φορές έναν αριθμό μικρότερων κυκλικών μορίων, που ονομάζονται πλασμίδια. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα το DNA κατανέμεται στον πυρήνα, στα μιτοχόνδρια και στους χλωροπλάστες (φυτικά κύτταρα). Το DNA του πυρήνα κατανέμεται στον άνθρωπο σε 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων. Τα χρωμοσώματα εμφανίζουν διαφορετικό βαθμό συσπείρωσης, ανάλογα με το στάδιο του κυτταρικού κύκλου στο οποίο τα παρατηρούμε. Τα χρωμοσώματα είναι ορατά στο οπτικό μικροσκόπιο κατά τη μετάφαση, επειδή σε αυτό το στάδιο του κυτταρικού κύκλου εμφανίζουν τον υψηλότερο βαθμό συσπείρωσης. Στο στάδιο αυτό κάθε χρωμόσωμα αποτελείται από δύο αδελφές χρωματίδες, οι οποίες συγκρατούνται στο κεντρομερίδιο. Η απεικόνιση των χρωμοσωμάτων κατά ελαττούμενο μέγεθος ονομάζεται καρυότυπος. Τα μιτοχόνδρια (στους περισσότερους οργανισμούς) και οι χλωροπλάστες έχουν κυκλικά μόρια DNA, που περιέχουν πληροφορίες σχετικές με τη λειτουργία των οργανιδίων αυτών.

## Ερωτήσεις

1. Το DNA σε δύο διαφορετικά κύτταρα ανθρώπου βρέθηκε ότι αποτελείται στο ένα από  $3 \times 10^9$  και στο άλλο από  $6 \times 10^9$  ζεύγη βάσεων. Πως μπορεί να εξηγηθεί αυτό;
2. Με ποιόν από τους τρόπους που αναφέρονται πιο κάτω συνδέεται κάθε νουκλεοτίδιο με το αμέσως επόμενο του στην πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα του DNA;
  - α. Η φωσφορική ομάδα του ενός με την αζωτούχο βάση του επόμενου.
  - β. Η φωσφορική ομάδα του ενός με τη δεοξυριβόζη του επόμενου.
  - γ. Η αζωτούχος βάση του ενός με τη δεσοξυριβόζη του επόμενου.
  - δ. Οι αζωτούχες βάσεις δύο συνεχόμενων νουκλεοτιδίων με δεσμούς υδρογόνου.
  - ε. Η δεοξυριβόζη του ενός με τη φωσφορική ομάδα του επόμενου.
  - στ. Οι φωσφορικές ομάδες δύο συνεχόμενων νουκλεοτιδίων μεταξύ τους.
3. Σε ένα μόριο DNA ευκαρυωτικού κυττάρου η αδενίνη αποτελεί το 20% των αζωτούχων βάσεων του. Σε ποιες αναλογίες (%) θα βρίσκεται η κάθε μία από τις υπόλοιπες αζωτούχες βάσεις του;
4. Να αναφέρετε, συνοπτικά, τις λειτουργίες του γενετικού υλικού.
5. Οι επιστήμονες μπορούν να κατασκευάσουν ένα σύνθετο ιό που προσβάλλει βακτήρια (βακτηριοφάγος) που έχει το πρωτεϊνικό κάλυμμα του φάγου  $T_2$  και το DNA του φάγου  $T_4$ . Όταν ο σύνθετος αυτός φάγος μολύνει ένα βακτήριο, οι απόγονοι φάγοι που θα παραχθούν θα έχουν:
  - α. τις πρωτεΐνες του φάγου  $T_2$  και το DNA του φάγου  $T_4$
  - β. τις πρωτεΐνες του φάγου  $T_4$  και το DNA του φάγου  $T_2$
  - γ. μίγμα του DNA και των πρωτεϊνών και των δύο φάγων
  - δ. τις πρωτεΐνες και το DNA του φάγου  $T_2$
  - ε. τις πρωτεΐνες και το DNA του φάγου  $T_4$
 Να τεκμηριώσετε την απάντησή σας.
6. Τι είναι τα πλασμίδια; Να αναφέρετε δύο σημαντικά είδη γονιδίων που εντοπίζονται σε αυτά.
7. Ποιά από τις παρακάτω προτάσεις που αφορά τα νουκλεοσώματα είναι σωστή;
  - α. Κατασκευάζονται από χρωμοσώματα
  - β. Αποτελούνται αποκλειστικά από DNA
  - γ. Αποτελούνται από DNA που τυλίγεται γύρω από πρωτεΐνες (ιστονές)
  - δ. Δημιουργούνται μόνο κατά την κυτταρική διαίρεση

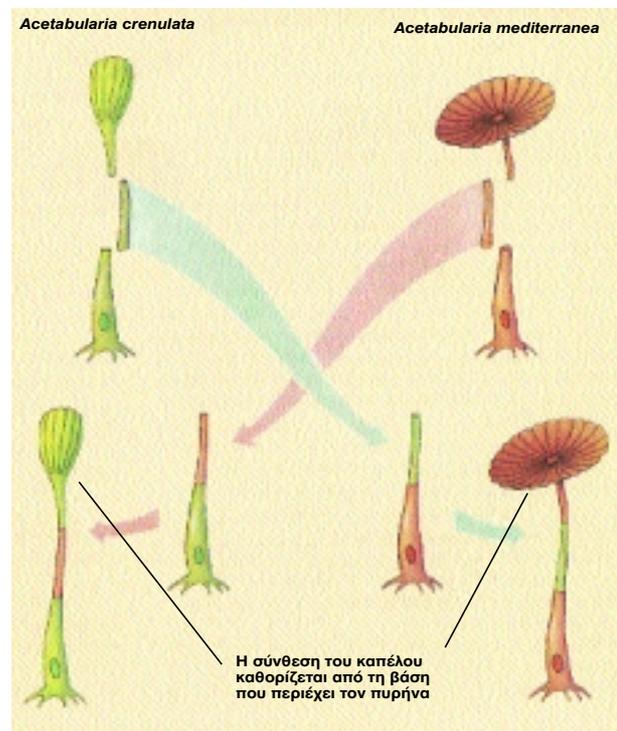
ε. Εμφανίζονται μόνο κατά τη μεσόφαση

8. Να τοποθετήσετε κατά μέγεθος από το μικρότερο στο μεγαλύτερο τα:  
Χρωμόσωμα, νουκλεοτίδιο, γονίδιο, νουκλεόσωμα.

9. Στο κείμενο που ακολουθεί διαγράψτε λέξεις ή φράσεις, ώστε η πρόταση που θα παραμείνει, να είναι σωστή.

Το γενετικό υλικό των μιτοχονδρίων είναι ένα [μονόκλωνο-δίκλωνο] μόριο [DNA-RNA] συνήθως [γραμμικό-κυκλικό] και περιέχει γενετικές πληροφορίες για [όλες-μερικές από] τις λειτουργίες του.

10. Η *Acetabularia* είναι ένας μονοκύτταρος οργανισμός με διαφοροποιημένα τμήματα: βάση, μίσχο και καπέλο. Σε ένα πείραμα ο J. Hummering “μετεμφύτευσε” στη βάση του είδους *Acetabularia crenulata* το μίσχο από το είδος *Acetabularia mediterranea* και αντίστροφα. Και στις δύο περιπτώσεις το καπέλο που σχηματίστηκε καθορίστηκε από τη βάση του οργανισμού, όπου βρίσκεται ο πυρήνας, και όχι από το μίσχο, που συνδέεται άμεσα με το καπέλο. Ποιά συμπεράσματα βγαίνουν;

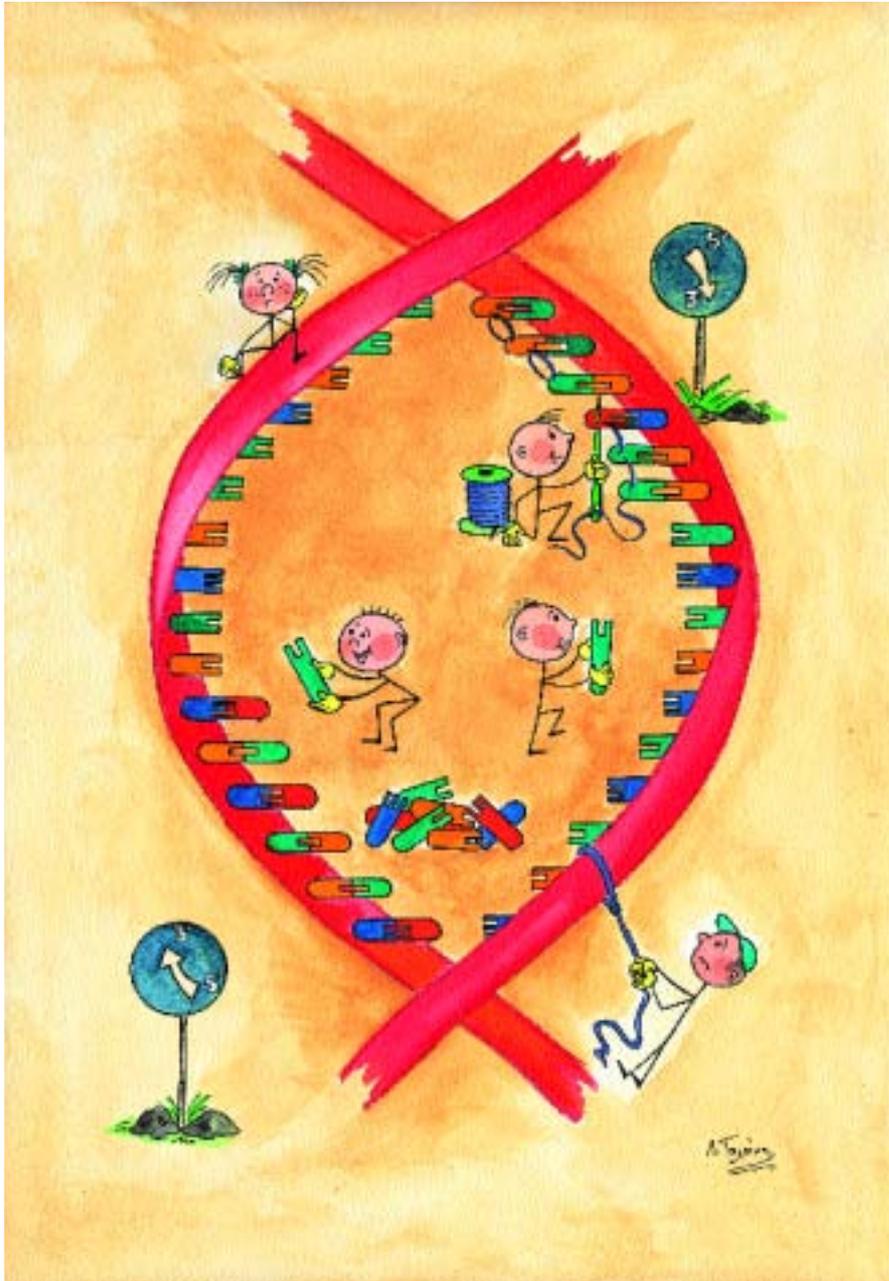


## Βιο... περίπατοι στο Διαδίκτυο (Internet)

Όνομα ιστοσελίδας	Περιγραφή	Διεύθυνση στο Internet
1. <b>DNA from the beginning</b>	Το διάσημο βιολογικό εργαστήριο του Cold Spring Harbor βρήκε έναν θαυμάσιο τρόπο να μας εισάγει στην Γενετική και το γενετικό υλικό	<a href="http://vector.cshl.org/dnaftb/">http://vector.cshl.org/dnaftb/</a>
2. <b>Biology Hypertextbook</b>	Μία εικονογραφημένη εγκυκλοπαίδεια στο διαδίκτυο. Βρείτε μια πληθώρα στοιχείων για θέματα Γενετικής, Κυτταρικής Βιολογίας, Ανοσολογίας και Βιοχημείας	<a href="http://www.botany.uwc.ac.za/mirrors/MIT-bio/bio/7001main.html">http://www.botany.uwc.ac.za/mirrors/MIT-bio/bio/7001main.html</a>
3. <b>Gene Zine</b>	Μια αξιόλογη προσπάθεια να εξηγηθεί παραστατικά ο τρόπος με τον οποίο δουλεύουν τα γονίδια	<a href="http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/5451/index.htm">http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/5451/index.htm</a>
4. <b>The Dictionary of Cell Biology</b>	Ένα ηλεκτρονικό λεξικό κυτταρικής και μοριακής Βιολογίας από το Πανεπιστήμιο του Glamorgan στη Βρετανία, όπου θα βρείτε ορισμούς και πληροφορίες για θέματα που αναφέρονται σε πολλά κεφάλαια του βιβλίου σας.	<a href="http://www.mblab.gla.ac.uk/dictionary/">http://www.mblab.gla.ac.uk/dictionary/</a>
5. <b>Find DNA in your Kitchen</b>	Το DNA βρίσκεται ακόμη και... στην κουζίνα του σπιτιού σας. Απολαυστική παρουσίαση.	<a href="http://raven.umnh.utah.edu/new/projects/kitchenDNA.html">http://raven.umnh.utah.edu/new/projects/kitchenDNA.html</a>
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		

(Προσθέστε επιπλέον διευθύνσεις σχετικές με το θέμα από τις δικές σας εξερευνήσεις του κυβερνοχώρου)

# Αντιγραφή, έκφραση και ρύθμιση της γενετικής πληροφορίας



Για την αντιγραφή του DNA συνεργάζονται πολλά ένζυμα.

κεφάλαιο

2



## 2. Αντιγραφή, έκφραση και ρύθμιση της γενετικής πληροφορίας

### Αντιγραφή του DNA

#### Το DNA αυτοδιπλασιάζεται

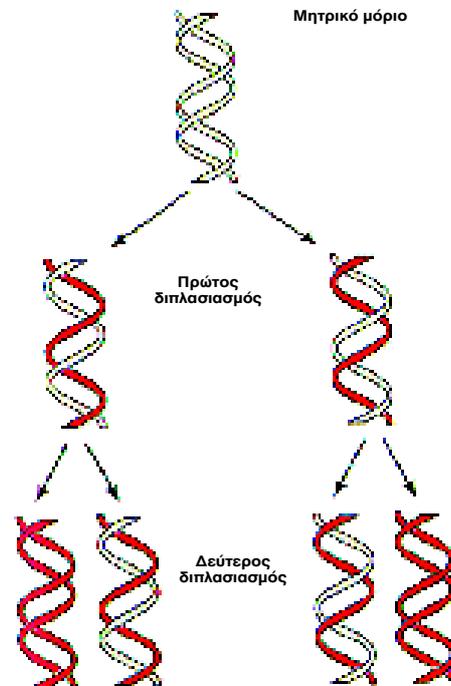
Η συμπληρωματικότητα των βάσεων του DNA ώθησε τους Watson και Crick, όταν περιέγραφαν το μοντέλο τους για τη δομή του γενετικού υλικού, το 1953, να γράψουν: “είναι φανερό ότι το ειδικό ζευγάρι που έχουμε υποθέσει ότι δημιουργείται μεταξύ των βάσεων προτείνει έναν απλό μηχανισμό αντιγραφής του γενετικού υλικού”. Οι Watson και Crick φαντάστηκαν μια διπλή έλικα η οποία ξετυλίγεται, και κάθε αλυσίδα λειτουργεί σαν καλούπι για τη σύνθεση μιας νέας συμπληρωματικής αλυσίδας. Έτσι τα δύο θυγατρικά μόρια που προκύπτουν είναι πανομοιότυπα με το μητρικό, και καθένα αποτελείται από μία παλιά και μία καινούρια αλυσίδα. Ο μηχανισμός αυτός ονομάστηκε **ημισυντηρητικός** (Εικόνα 2.1).

#### Στην αντιγραφή του DNA συνεργάζονται πολλά ένζυμα

Η διαδικασία της αντιγραφής, όπως υποδηλώνεται από τη δομή της διπλής έλικας και τον ημισυντηρητικό μηχανισμό, φαίνεται απλή. Όμως, ύστερα από πολύχρονη ερευνητική μελέτη διαπιστώθηκε ότι η διαδικασία στην πραγματικότητα είναι ιδιαίτερα πολύπλοκη. Τα κύτταρα διαθέτουν ένα σημαντικό “οπλοστάσιο” εξειδικευμένων ενζύμων και άλλων πρωτεϊνών, που λειτουργούν ταυτόχρονα και καταλύουν τις χημικές αντιδράσεις της αντιγραφής με μεγάλη ταχύτητα και με εκπληκτική ακρίβεια.

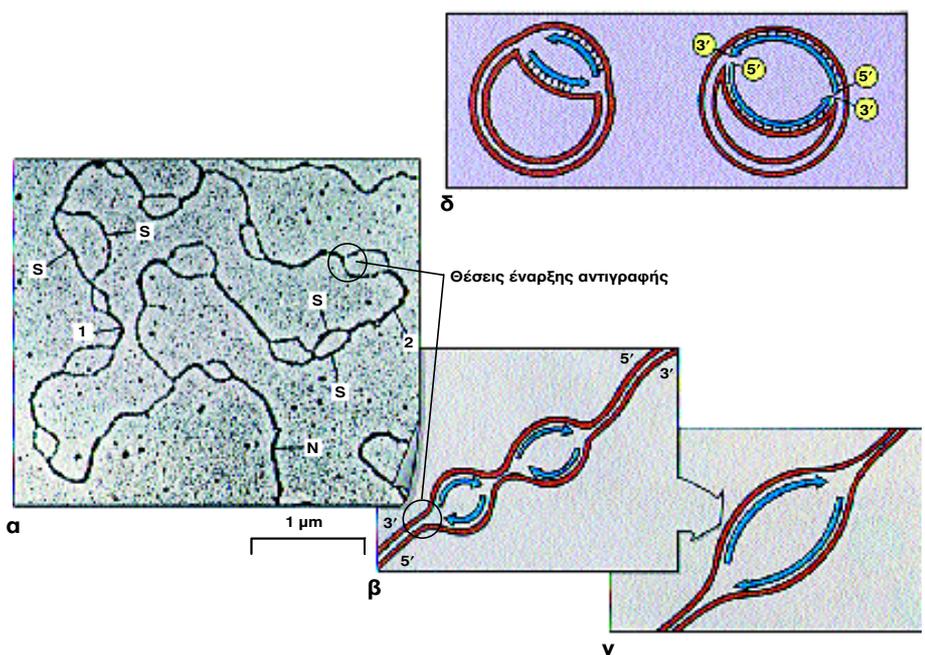
Ο μηχανισμός της αντιγραφής έχει μελετηθεί πολύ περισσότερο στα προκαρυωτικά κύτταρα, και κυρίως στο βακτήριο *Escherichia coli*, γιατί το DNA τους είναι πολύ μικρότερο και απλούστερα οργανωμένο από το DNA των ευκαρυωτικών κυττάρων. Όμως τα βασικά στάδια του μηχανισμού της αντιγραφής παρουσιάζουν σημαντικές ομοιότητες και στα δύο είδη κυττάρων.

Η αντιγραφή του DNA αρχίζει από καθορισμένα σημεία, που ονομάζονται **θέσεις έναρξης της αντιγραφής** (Εικόνα 2.2). Το βακτηριακό DNA, που είναι κυκλικό, έχει μία μόνο θέση έναρξης της αντιγραφής και αντιγράφεται κάτω από ευνοϊκές συνθήκες



Εικόνα 2.1 Ημισυντηρητικός διπλασιασμός DNA.

Εικόνα 2.2 Σημεία έναρξης αντιγραφής του DNA α. στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς (φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου β. και γ. στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς διαγραμματικά δ. στα βακτήρια διαγραμματικά.



σε λιγότερο από 30 λεπτά. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα κάθε χρωμόσωμα είναι ένα μακρύ γραμμικό μόριο DNA, το οποίο έχει πολυάριθμες θέσεις έναρξης της αντιγραφής. Έτσι το DNA των χρωμοσωμάτων των ευκαρυωτικών κυττάρων αντιγράφεται ταυτόχρονα από εκατοντάδες σημεία σε όλο το μήκος του, και στη συνέχεια τα τμήματα που δημιουργούνται ενώνονται μεταξύ τους. Με αυτό τον τρόπο το DNA των ανώτερων ευκαρυωτικών οργανισμών, παρ'ότι είναι περίπου 1.000 φορές μεγαλύτερο από των προκαρυωτικών, αντιγράφεται πολύ γρήγορα.

Για να αρχίσει η αντιγραφή του DNA, είναι απαραίτητο να ξετυλιχθούν στις θέσεις έναρξης της αντιγραφής οι δύο αλυσίδες. Αυτό επιτυγχάνεται με τη βοήθεια ειδικών ενζύμων, που σπάζουν τους υδρογονικούς δεσμούς μεταξύ των δύο αλυσίδων. Τα ένζυμα αυτά ονομάζονται **DNA ελικάσες**. Όταν ανοίξει η διπλή έλικα, δημιουργείται μια «θηλιά», η οποία αυξάνεται και προς τις δύο κατευθύνσεις. Οι θηλιές που δημιουργούνται κατά την έναρξη της αντιγραφής σε ένα μόριο DNA είναι ορατές με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Εικόνα 2.2 α).

#### Τα ένζυμα ξεμπερδεύουν το σχοινί!

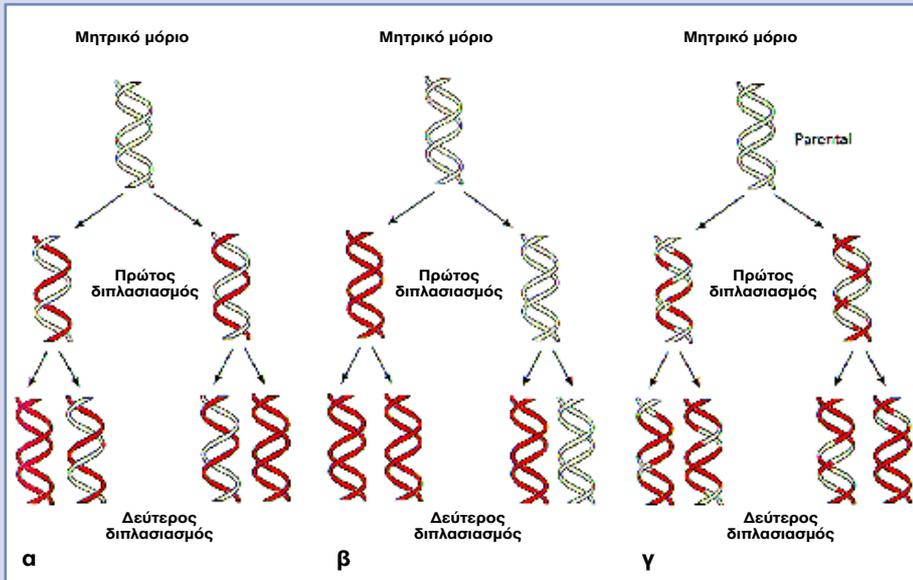
Όταν το DNA αρχίζει να ξετυλίγεται, δημιουργείται ένα πρόβλημα όμοιο με εκείνο το οποίο αντιμετωπίζουμε όταν προσπαθούμε να ξετυλίξουμε ένα δίκλωνο σχοινί. Το σχοινί, που είναι μια διπλή έλικα, περιστρέφεται γύρω από τον εαυτό του και δημιουργεί υπερέλικες. Το ίδιο συμβαίνει και με το DNA. Οι υπερέλικες εμποδίζουν το ξετύλιγμα του DNA, άρα και τη συνέχιση της αντιγραφής. Το κύτταρο λύνει το πρόβλημα αυτό με ειδικά ένζυμα, τα οποία καταστρέφουν τις υπερέλικες που δημιουργούνται κατά το ξετύλιγμα.

Τα κύρια ένζυμα που συμμετέχουν στην αντιγραφή του DNA ονομάζονται **DNA πολυμεράσες**. Επειδή τα ένζυμα αυτά δεν έχουν την ικανότητα να αρχίσουν την αντιγραφή, το κύτταρο έχει ένα ειδικό σύμπλοκο που αποτελείται από πολλά ένζυμα, το **πριμόσωμα**, το οποίο συνθέτει στις θέσεις έναρξης της αντιγραφής μικρά τμήματα RNA, συμπληρωματικά προς τις μητρικές αλυσίδες, τα οποία ονομάζονται **πρωταρχικά τμήματα**. Ένα είδος DNA πολυμεράσης επιμηκύνει τα πρωταρχικά τμήματα, τοποθετώντας συμπληρωματικά δεοξυριβονουκλεοτίδια απέναντι από τις μητρικές αλυσίδες του DNA. Τα νέα μόρια DNA αρχίζουν να σχηματίζονται, καθώς δημιουργούνται υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ των συμπληρωματικών αζωτούχων βάσεων των δεοξυριβονουκλεοτιδίων. Η DNA πολυμεράση επιδιορθώνει επίσης λάθη που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της αντιγραφής. Μπορεί, δηλαδή, να «βλέπει» και να απομακρύνει νουκλεοτίδια που η

#### Η πειραματική απόδειξη του μηχανισμού αντιγραφής του DNA

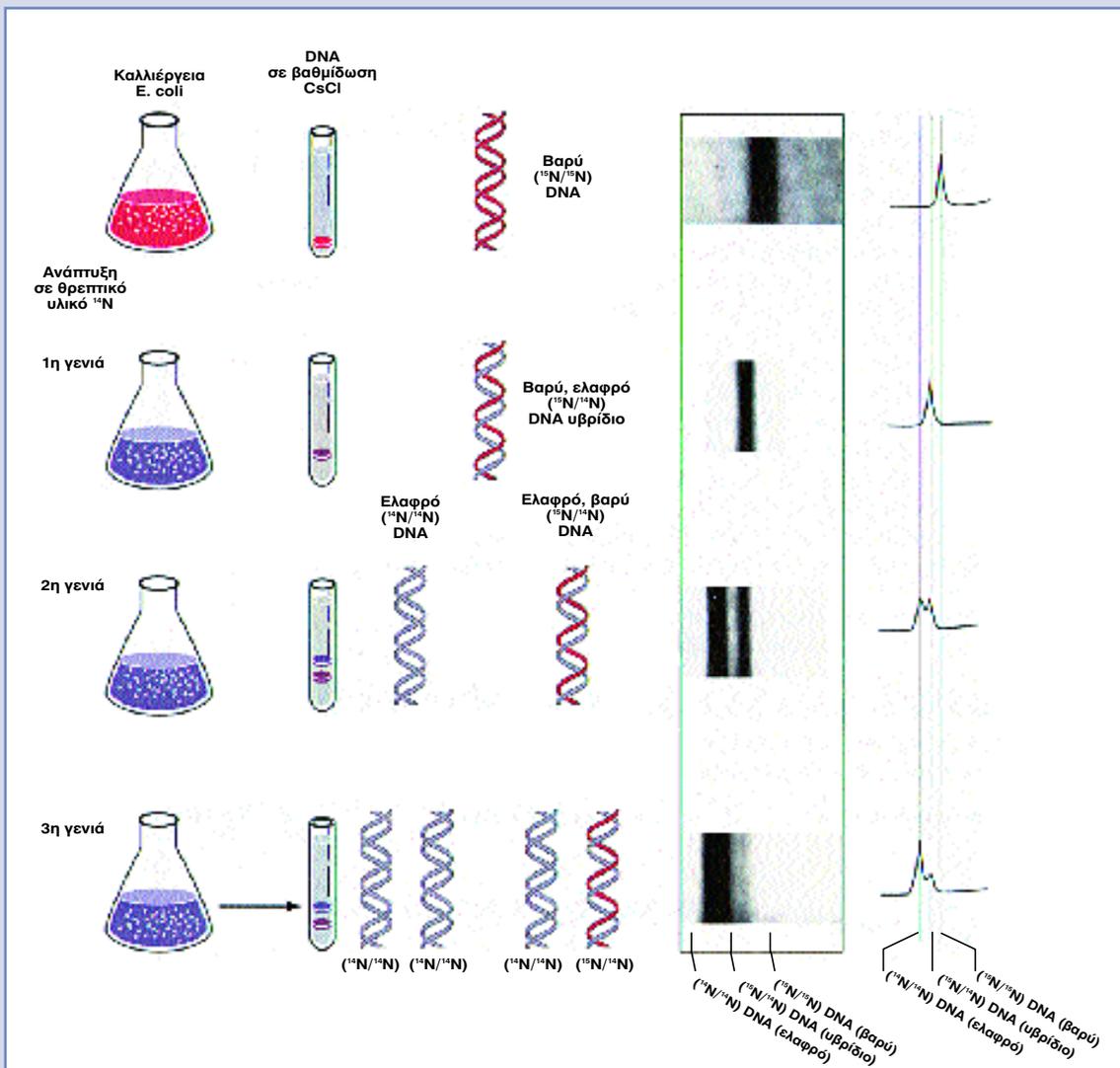
Μολονότι ο ημισυντηρητικός μηχανισμός της αντιγραφής του DNA φαινόταν να είναι φυσική συνέπεια των ιδιοτήτων του, έπρεπε να αποδειχτεί και πειραματικά. Έπρεπε να αποκλειστεί η πιθανότητα να υπάρχει ένας άλλος μηχανισμός αντιγραφής όπως, π.χ., ο συντηρητικός ή ο διασπαρτικός. Αν ο μηχανισμός ήταν συντηρητικός, το μητρικό μόριο θα διατηρούσε την αρχική μορφή του και το θυγατρικό μόριο θα αποτελούνταν από τις δύο νέες αλυσίδες. Αν ήταν διασπαρτικός, τα δύο νέα μόρια DNA θα περιείχαν τυχαίες περιοχές και των μητρικών και των θυγατρικών μορίων.

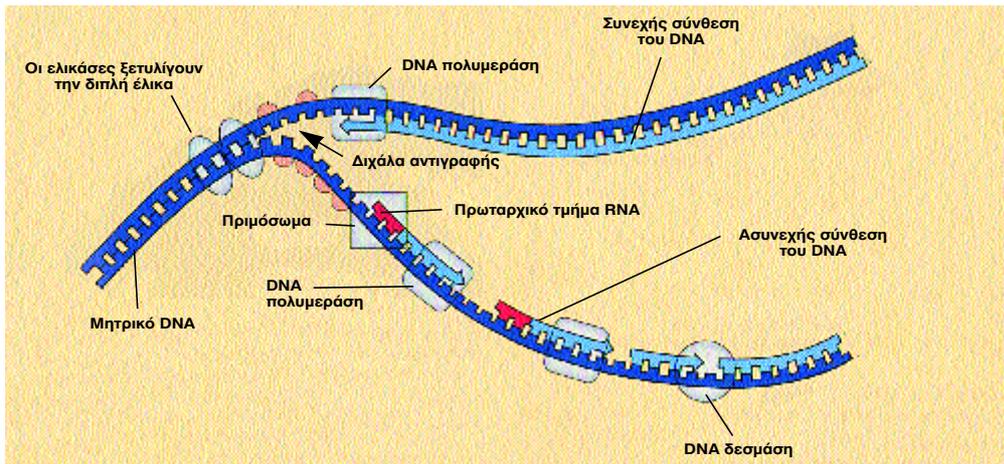
Οι Meselson και Stahl (1958) απέδειξαν ότι ο μηχανισμός της αντιγραφής του DNA είναι ημισυντηρητικός και απέκλεισαν το συντηρητικό και το διασπαρτικό τρόπο. Στο πείραμά τους βακτήρια *E. coli* αναπτύχθηκαν για πολλές γενιές σε θρεπτικό υλικό, που περιείχε ως μοναδική πηγή αζώτου  $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ . Το αποτέλεσμα ήταν να δημιουργηθεί DNA που περιείχε «βαρύ» άζωτο  $^{15}\text{N}$  αντί για «ελαφρό»  $^{14}\text{N}$ . Τα κύτταρα αυτά μεταφέρθηκαν στη συνέχεια σε θρεπτικό υλικό με  $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$  και αναπτύχθηκαν στο υλικό αυτό για πολλές γενιές. Οι ερευνητές πήραν δείγματα από την κυτταροκαλλιέργεια σε διάφορα χρονικά διαστήματα, απομόνωσαν το DNA και μέτρησαν την πυκνότητά του με μια τεχνική, που ονομάζεται υπερφυγοκέντρωση. Πριν από τη μεταφορά των κυττάρων στο  $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$ , όλα τα μόρια DNA έχουν μόνο βαρύ  $^{15}\text{N}$  και εμφανίζονται σαν μια ζώνη με βαρύ DNA. Υστερα από την πρώτη κυτταρική διαίρεση σε θρεπτικό υλικό με  $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$  όλα τα μόρια DNA είναι υβριδικά  $^{15}\text{N}$ - $^{14}\text{N}$  και εμφανίζονται σε μια ζώνη ενδιάμεσης πυκνότητας. Μετά τη δεύτερη κυτταρική διαίρεση το DNA είναι μοιρασμένο εξίσου σε δύο ζώνες, μία ενδιάμεσης πυκνότητας (υβριδικά μόρια  $^{15}\text{N}$ - $^{14}\text{N}$  DNA) και μία με ελαφρό  $^{14}\text{N}$  DNA. Τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίζουν μόνο τον ημισυντηρητικό μηχανισμό. Αν ο μηχανισμός αντιγραφής ήταν συντηρητικός, τότε στην πρώτη γενιά το DNA θα εμφανιζόταν σε δύο ζώνες, μία με βαρύ  $^{15}\text{N}$  DNA και μία με ελαφρό  $^{14}\text{N}$  DNA. Αν ο μηχανισμός αντιγραφής ήταν διασπαρτικός, τότε στην πρώτη γενιά το αποτέλεσμα θα ήταν παρόμοιο με το αποτέλεσμα του ημισυντηρητικού, δηλαδή όλα τα μόρια DNA θα ήταν υβριδικά (τα δύο μόρια DNA θα παράγονταν από κομμάτια παλιού ( $^{15}\text{N}$ ) και νέου ( $^{14}\text{N}$ ) DNA). Μετά τη δεύτερη όμως γενιά θα εμφανιζόταν πάλι μια ασαφής υβριδική ζώνη.



Υποθετικά μοντέλα διπλασιασμού του DNA, α) ημισυντηρητικός, β) συντηρητικός γ) διασπαρτικός.

Ημισυντηρητικός διπλασιασμός του DNA. Ανάθεση των αποτελεσμάτων Meselson και Stahl.





Εικόνα 2.3 Ένζυμα που συμμετέχουν στην αντιγραφή του DNA. Η σύνθεση της μιας αλυσίδας του DNA είναι συνεχής ενώ της άλλης ασυνεχής.

ίδια εισάγει, κατά παράβαση του κανόνα της συμπληρωματικότητας, και να τοποθετεί τα σωστά. Ταυτόχρονα ένα άλλο είδος DNA πολυμεράσης απομακρύνει τα πρωταρχικά τμήματα RNA και τα αντικαθιστά με τμήματα DNA.

Οι DNA πολυμεράσες λειτουργούν μόνο προς καθορισμένη κατεύθυνση, και τοποθετούν τα νουκλεοτίδια στο ελεύθερο 3' άκρο της δεοξυριβόζης του τελευταίου νουκλεοτιδίου κάθε αναπτυσσόμενης αλυσίδας. Έτσι, λέμε ότι αντιγραφή γίνεται με προσανατολισμό 5' προς 3'. Κάθε νεοσυνθετόμενη αλυσίδα θα έχει προσανατολισμό 5' → 3'. Έτσι σε κάθε διπλή έλικα που παράγεται οι δύο αλυσίδες θα είναι αντιπαράλληλες. Για να ακολουθηθεί αυτός ο κανόνας κατά την αντιγραφή, η σύνθεση του DNA είναι **συνεχής** στη μια αλυσίδα και **ασυνεχής** στην άλλη. Τα κομμάτια της ασυνεχούς αλυσίδας συνδέονται μεταξύ τους με τη βοήθεια ενός ενζύμου, που ονομάζεται **DNA δεσμάση** (Εικόνα 2.3). Το ίδιο ένζυμο συνδέει και όλα τα κομμάτια που προκύπτουν από τις διάφορες θέσεις έναρξης αντιγραφής.

Όπως τα προϊόντα ενός εργοστασίου ελέγχονται με αρκετούς τρόπους, για να εξακριβωθεί αν έχουν κατασκευαστεί σωστά, έτσι και το κύτταρο ελέγχει αν η αλληλουχία βάσεων του DNA είναι σωστή. Η αντιγραφή του DNA είναι απίστευτα ακριβής, μόνο ένα νουκλεοτίδιο στα 100.000 μπορεί να ενσωματωθεί λάθος. Τα λάθη που δεν επιδιορθώνονται από την DNA πολυμεράση επιδιορθώνονται σε μεγάλο ποσοστό από ειδικά **επιδιορθωτικά ένζυμα**. Έτσι ο αριθμός των λαθών περιορίζεται στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς στο ένα στα 10<sup>10</sup>!!

### Σκεφθείτε

Αν κάνατε εργασία αντίστοιχη με αυτήν που πραγματοποιούν οι DNA πολυμεράσες και έπρεπε να τοποθετείτε κατά μήκος ενός τεράστιου καλουπιού τούβλα που θα διαλέγατε από ένα σάκο με κριτήριο μόνο το σχήμα τους, πόσα λάθη θα κάνατε;

## Έκφραση της γενετικής πληροφορίας

### Η ροή της γενετικής πληροφορίας

Το DNA ενός οργανισμού είναι ο μοριακός “σκληρός δίσκος” που περιέχει αποθηκευμένες ακριβείς οδηγίες, οι οποίες καθορίζουν τη δομή και τη λειτουργία του οργανισμού. Ταυτόχρονα περιέχει την πληροφορία για τον αυτοδιπλασιασμό του, εξασφαλίζοντας έτσι τη μεταβίβαση των γενετικών οδηγιών από ένα κύτταρο στα θυγατρικά του και από έναν οργανισμό στους απογόνους του.

Το πρώτο βήμα για την έκφραση της πληροφορίας που υπάρχει στο DNA είναι η μεταφορά της στο RNA με τη διαδικασία της **μεταγραφής**. Το RNA μεταφέρει με τη σειρά του, μέσω της διαδικασίας της **μετάφρασης**, την πληροφορία στις πρωτεΐνες που είναι υπεύθυνες για τη δομή και λειτουργία των κυττάρων και κατ' επέκταση και των οργανισμών.

Η σχέση αυτή συνοψίζεται στο ακόλουθο σχήμα, όπου τα βέλη δείχνουν την κατεύθυνση της μεταφοράς της γενετικής πληροφορίας :

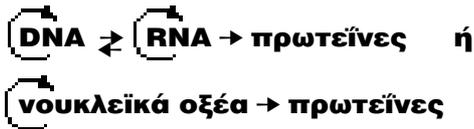


Το σχήμα αυτό αποτελεί το **κεντρικό δόγμα** της μοριακής βιολογίας όπως ονομάστηκε από τον F. Crick (1958). Η γενετική πληροφορία είναι η καθορισμένη σειρά των βάσεων, όπως η πληροφορία μιας γραπτής φράσης είναι η σειρά των γραμμάτων που την αποτελούν. Η πληροφορία υπάρχει σε τμήματα του DNA με συγκεκριμένη ακολουθία, τα **γονίδια**. Αυτά, διά μέσου της μεταγραφής και της μετάφρασης, καθορίζουν τη σειρά των αμινοξέων στην πρωτεΐνη. Οι πορείες της μεταγραφής και της μετάφρασης των γονιδίων αποτελούν τη **γονιδιακή έκφραση**.

Για αρκετό καιρό οι ερευνητές πίστευαν ότι όλη η ροή

της γενετικής πληροφορίας γινόταν προς τη μία μόνο κατεύθυνση, δηλαδή ότι το DNA μεταγραφόταν σε RNA. Σήμερα είναι γνωστό ότι μερικοί ιοί έχουν RNA ως γενετικό υλικό. Ένα ένζυμο που υπάρχει στους ίδιους τους ιούς, η **αντίστροφη μεταγραφάση**, χρησιμοποιεί ως καλούπι το RNA, για να συνθέσει DNA. Επιπλέον, σε ορισμένους ιούς το RNA έχει την ικανότητα να αυτοδιπλασιάζεται.

Έτσι σήμερα το κεντρικό δόγμα περιγράφεται ως εξής:



Συνοψίζοντας, λοιπόν, διαπιστώνουμε ότι η αντιγραφή του DNA διαιωνίζει τη γενετική πληροφορία, ενώ η μετάφραση χρησιμοποιεί αυτή την πληροφορία, για να κατασκευάσει ένα πολυπεπτιδίο. Η μεταγραφή καθορίζει ποια γονίδια θα εκφραστούν, σε ποιους ιστούς (στους πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς), και σε ποια στάδια της ανάπτυξης.

Το απλοειδές ανθρώπινο γονιδίωμα έχει μήκος  $3 \times 10^9$  ζεύγη βάσεων. Υπολογίζεται ότι από αυτό μόνο το 5%, περίπου, μεταγράφεται σε RNA, δηλαδή αποτελεί τα γονίδια (περίπου 65.000-80.000 γονίδια). Τα γονίδια διακρίνονται σε δύο κατηγορίες:

- Στα γονίδια που μεταγράφονται σε mRNA και μεταφράζονται στη συνέχεια σε πρωτεΐνες και
- Στα γονίδια που μεταγράφονται και παράγουν tRNA, rRNA και snRNA.

Όλα τα κύτταρα ενός πολυκύτταρου οργανισμού έχουν το ίδιο DNA. Το κάθε ανθρώπινο κύτταρο περιέχει και τα 65.000-80.000 περίπου γονίδια. Σε κάθε κύτταρο όμως εκφράζονται διαφορετικά γονίδια. Στα πρόδρομα ερυθροκύτταρα, για παράδειγμα, εκφράζονται κυρίως τα γονίδια των αιμοσφαιρινών, ενώ στα Β-λεμφοκύτταρα τα γονίδια των αντισωμάτων.

Υπάρχουν τέσσερα είδη μορίων RNA που παράγονται με τη μεταγραφή: το **αγγελιαφόρο RNA (mRNA)**, το **μεταφορικό RNA (tRNA)**, το **ριβωσωμικό RNA (rRNA)** και το **μικρό πυρηνικό RNA (snRNA)**. Τα τρία πρώτα είδη υπάρχουν και στους προκαρυωτικούς και στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, αλλά το τέταρτο υπάρχει μόνο στους ευκαρυωτικούς

1. Αγγελιαφόρο RNA (mRNA). Τα μόρια αυτά μεταφέρουν την πληροφορία του DNA για την παραγωγή μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας.
2. Ριβωσωμικό RNA (rRNA). Τα μόρια αυτά συνδέονται με πρωτεΐνες και σχηματίζουν το ριβόσωμα, ένα "σωματίδιο" απαραίτητο για την πραγματοποίηση της πρωτεϊνοσύνθεσης.

Είναι και τα  $3 \times 10^9$  ζεύγη βάσεων του DNA απαραίτητα για τη λειτουργία κάθε κυτάρου του οργανισμού μας;

Εάν μόνο το 5% του γονιδιώματος αποτελείται από γονίδια, προκύπτει εύλογα το ερώτημα για το ποιος είναι ο ρόλος του υπόλοιπου 95% του DNA. Μερικοί ερευνητές το χαρακτηρίζουν ως «σαβούρα», που συσσωρεύτηκε κατά τη διάρκεια της εξέλιξης και είτε δεν έχει εμφανείς λειτουργίες είτε αυτές δεν είναι ακόμη γνωστές. Όπως θα μάθουμε παρακάτω, πολύ σύντομα θα γνωρίζουμε ολόκληρη την αλληλουχία των βάσεων του ανθρώπινου γονιδιώματος, και αυτό πιστεύεται ότι θα βοηθήσει στην πλήρη κατανόηση των λειτουργιών του.

Αν η αλληλουχία των βάσεων του ανθρώπινου γονιδιώματος γραφτεί με κεφαλαία γράμματα χωρίς κενά, καλύπτει περίπου 1.000 βιβλία μεγέθους τηλεφωνικού καταλόγου;

3. Μεταφορικό RNA (tRNA). Κάθε μεταφορικό RNA συνδέεται με ένα συγκεκριμένο αμινοξύ και το μεταφέρει στη θέση της πρωτεϊνοσύνθεσης.
4. Μικρό πυρηνικό RNA (snRNA). Είναι μικρά μόρια RNA, τα οποία συνδέονται με πρωτεΐνες και σχηματίζουν μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια. Τα σωματίδια αυτά καταλύουν την "ωρίμανση" του mRNA, μια διαδικασία που, όπως θα αναφερθεί παρακάτω, γίνεται μόνο στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.

Η Μοριακή Βιολογία με αριθμούς

**Αγγελιαφόρο RNA (mRNA).** Αποτελεί λιγότερο από το 5% του ολικού RNA του κυτάρου. Τα περισσότερα mRNA έχουν μήκος 500-2.000 βάσεις.

**Ριβωσωμικό RNA (rRNA).** Είναι το πιο άφθονο από τα είδη RNA και αποτελεί το 80% περίπου του συνολικού RNA του κυτάρου. Έχει μέγεθος 100-3.000 βάσεις.

**Μεταφορικό RNA (tRNA).** Τα μόρια αυτά αποτελούν το 15% περίπου του συνολικού RNA στο κύτταρο. Αποτελείται από 70-85 βάσεις.

### Ταξίδι στο χρόνο

- 1941** Διατυπώνεται από τους Beadle και Tatum η υπόθεση ότι ένα γονίδιο κωδικοποιεί την πληροφορία που απαιτείται για τη βιοσύνθεση ενός ενζύμου.
- 1958** Οι Meselson και Stahl αποδεικνύουν ότι το DNA αντιγράφεται με ημισυντηρητικό τρόπο.
- 1961** Οι Crick και Nirenberg ανακαλύπτουν την “νουκλεοτιδική τριπλέτα” και αποκρυπτογραφούν εν μέρει το γενετικό κώδικα.
- 1962** Γίνεται γνωστή η ύπαρξη του mRNA. Οι Jacob και Monod προτείνουν το μοντέλο του οπερονίου για την ερμηνεία της γονιδιακής ρύθμισης.
- 1966** Ο Khorana αποκρυπτογραφεί το γενετικό κώδικα του DNA.
- 1970** Ανακαλύπτεται στους ρετροϊούς το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφή από τους Baltimore και Temin.
- 1977** Ανακαλύπτονται από τις ομάδες των Sharp και Roberts τα “διακεκομμένα” γονίδια και η διαδικασία “συρραφής” τους.

### Η ανακάλυψη των εσώνιων έφερε στο φως μία μη αναμενόμενη λειτουργία του RNA

Η ύπαρξη των εσώνιων ανακαλύφθηκε το 1977 από δύο ξεχωριστές ερευνητικές ομάδες, την ομάδα του Sharp και την ομάδα του Roberts. Οι Sharp και Roberts τιμήθηκαν το 1993 με το βραβείο Νόμπελ για την εργασία τους. Όπως έχουμε αναφέρει, τα εσώνια είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα των γονιδίων των ευκαρυωτικών οργανισμών. Μάλιστα, στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς υπάρχουν γονίδια που έχουν τεράστια εσώνια. Όσο προχωρούμε προς τους κατώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς τα εσώνια γίνονται λιγότερα και μικρότερα. Το 1982 βρέθηκε σε ένα πρωτόζωο, ένα RNA που περιείχε ένα εσώνιο, το οποίο μπορούσε να αυτοκαταλύεται (να κόβει τον εαυτό του χωρίς τη βοήθεια πρωτεϊνικών ενζύμων). Το RNA αυτό ονομάστηκε ριβόζυμο. Έτσι, για πρώτη φορά έγινε φανερό ότι το RNA μπορεί να λειτουργήσει και ως ένζυμο. Το γεγονός ότι οι πρωτεΐνες δεν είναι οι μόνοι καταλύτες της ζωής δείχνει για μια ακόμη φορά ότι μέσω της επιστημονικής μεθόδου οι νόμοι τροποποιούνται συνεχώς, καθώς συλλέγονται νέες πληροφορίες ύστερα από κατάλληλες πειραματικές προσεγγίσεις.

### Μεταγραφή του DNA

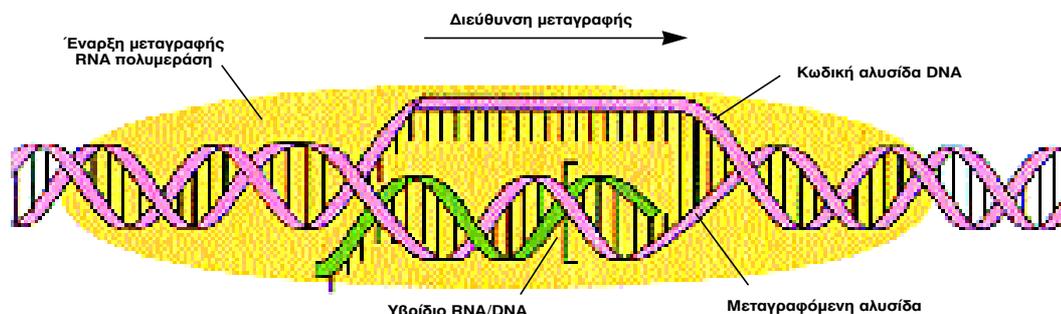
Ο μηχανισμός της μεταγραφής είναι ο ίδιος στους προκαρυωτικούς και ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Η μεταγραφή καταλύεται από ένα ένζυμο, την **RNA πολυμεράση** (στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς υπάρχουν τρία είδη RNA πολυμερασών).

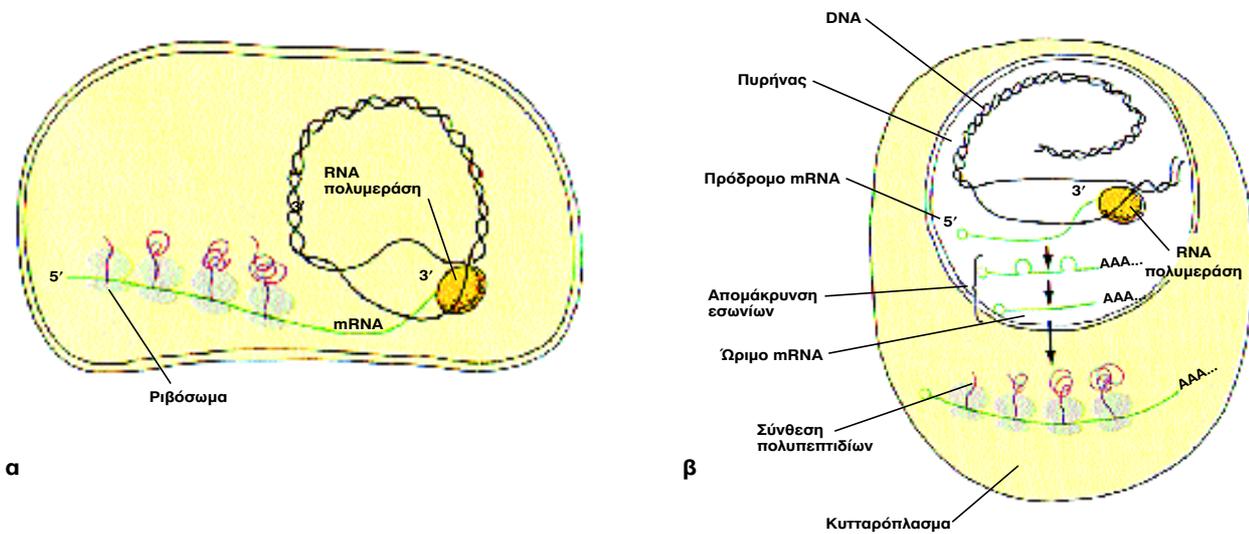
Η RNA πολυμεράση προσδένεται σε ειδικές περιοχές του DNA, που ονομάζονται **υποκινητές**, με τη βοήθεια πρωτεϊνών που ονομάζονται **μεταγραφικοί παράγοντες**. Οι υποκινητές και οι μεταγραφικοί παράγοντες αποτελούν τα

ρυθμιστικά στοιχεία της μεταγραφής του DNA και επιτρέπουν στην RNA πολυμεράση να αρχίσει σωστά τη μεταγραφή. Οι υποκινητές βρίσκονται πάντοτε πριν από την αρχή κάθε γονιδίου.

Κατά την έναρξη της μεταγραφής ενός γονιδίου η RNA πολυμεράση προσδένεται στον υποκινητή και προκαλεί τοπικό ξετύλιγμα της διπλής έλικας του DNA. Στη συνέχεια, τοποθετεί τα ριβονουκλεοτίδια απέναντι από τα δεοξυριβονουκλεοτίδια μίας αλυσίδα του DNA σύμφωνα

Εικόνα 2.4 Γενικός μηχανισμός της μεταγραφής του RNA.





Εικόνα 2.5 α. Μεταγραφή - μετάφραση στους προκαρυωτικούς οργανισμούς. β. Μεταγραφή - μετάφραση στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.

με τον κανόνα της συμπληρωματικότητας των βάσεων, όπως και στην αντιγραφή, με τη διαφορά ότι εδώ απέναντι από την αδενίνη τοποθετείται το ριβονουκλεοτίδιο που περιέχει ουρακίλη. Η RNA πολυμεράση συνδέει τα ριβονουκλεοτίδια, που προστίθενται το ένα μετά το άλλο, με  $3' \rightarrow 5'$  φωσφοδιεστερικό δεσμό. Η μεταγραφή έχει προσανατολισμό  $5' \rightarrow 3'$  όπως και η αντιγραφή (Εικόνα 2.4). Η σύνθεση του RNA σταματά στο τέλος του γονιδίου, όπου ειδικές αλληλουχίες οι οποίες ονομάζονται **αλληλουχίες λήξης της μεταγραφής**, επιτρέπουν την απελευθέρωσή του.

Το μόριο RNA που συντίθεται είναι συμπληρωματικό προς τη μία αλυσίδα της διπλής έλικας του DNA του γονιδίου. Η αλυσίδα αυτή είναι η **μεταγραφόμενη**. Η απέναντι αλυσίδα του DNA του γονιδίου ονομάζεται **κωδική**. Το RNA είναι το κινητό αντίγραφο της πληροφορίας ενός γονιδίου.

Στους προκαρυωτικούς οργανισμούς το mRNA αρχίζει να μεταφράζεται σε πρωτεΐνη πριν ακόμη ολοκληρωθεί η μεταγραφή του. Αυτό είναι δυνατό, επειδή δεν υπάρχει πυρηνική μεμβράνη. (Εικόνα 2.5α)

Αντίθετα, στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, το RNA που παράγεται κατά τη μεταγραφή ενός γονιδίου συνήθως δεν είναι έτοιμο να μεταφραστεί, αλλά υφίσταται μια πολύπλοκη διαδικασία **ωρίμανσης** (Εικόνα 2.5β και 2.6). Η διαδικασία αυτή αποτελεί ένα από τα πιο ενδιαφέροντα ευρήματα της Μοριακής Βιολογίας, γιατί οδήγησε στο συμπέρασμα ότι τα περισσότερα γονίδια των ευκαρυωτικών οργανισμών

(και των ιών που τους προσβάλλουν), είναι **ασυνεχή ή διακεκομμένα**. Δηλαδή, η αλληλουχία που μεταφράζεται σε αμινοξέα διακόπτεται από ενδιάμεσες αλληλουχίες οι οποίες δε μεταφράζονται σε αμινοξέα. Οι αλληλουχίες που μεταφράζονται σε αμινοξέα ονομάζονται **εξώνια** και οι ενδιάμεσες αλληλουχίες ονομάζονται **εσώνια**.

Όταν ένα γονίδιο που περιέχει εσώνια μεταγράφεται, δημιουργείται το **πρόδρομο mRNA** που περιέχει και εξώνια και εσώνια. Το πρόδρομο mRNA μετατρέπεται σε mRNA με τη διαδικασία της ωρίμανσης, κατά την οποία τα εσώνια κόβονται από μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά "σωματίδια" και απομακρύνονται. Τα ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια αποτελούνται από snRNA και από πρωτεΐνες και λειτουργούν ως ένζυμα: κόβουν τα εσώνια και συρράπτουν τα εξώνια μεταξύ τους. Έτσι σχηματίζεται

### Η Μοριακή Βιολογία με αριθμούς

Το μέσο μέγεθος των εξωνίων είναι 100-300 ζεύγη βάσεων, ενώ τα εσώνια ποικίλλουν σε μέγεθος από 65-100.000 ζεύγη βάσεων. Πολλά γονίδια έχουν μεγάλο αριθμό εσωνίων, π.χ. το γονίδιο του κολλαγόνου του ανθρώπου έχει 50 εσώνια. Ο αριθμός, το μέγεθος και η διεύθεση των εσωνίων ποικίλλουν από γονίδιο σε γονίδιο. Τα εσώνια αποτελούν μεγάλο ποσοστό των γονιδιωμάτων των πολύπλοκων οργανισμών και έχουν συμβάλει σε μεγάλο βαθμό στην αύξηση του μεγέθους των γονιδιωμάτων τους.

το “ώριμο” mRNA. Αυτό, παρ’ότι αποτελείται αποκλειστικά από εξώνια έχει δύο περιοχές που δε μεταφράζονται σε αμινοξέα. Η μία βρίσκεται στο 5’άκρο και η άλλη στο 3’άκρο. Οι αλληλουχίες αυτές ονομάζονται 5’και 3’ αμετάφραστες περιοχές, αντίστοιχα. Το ώριμο mRNA μεταφέρεται από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα και ειδικότερα στα ριβοσώματα όπου είναι η θέση της πρωτεϊνσύνθεσης (Εικόνα 2.5β).

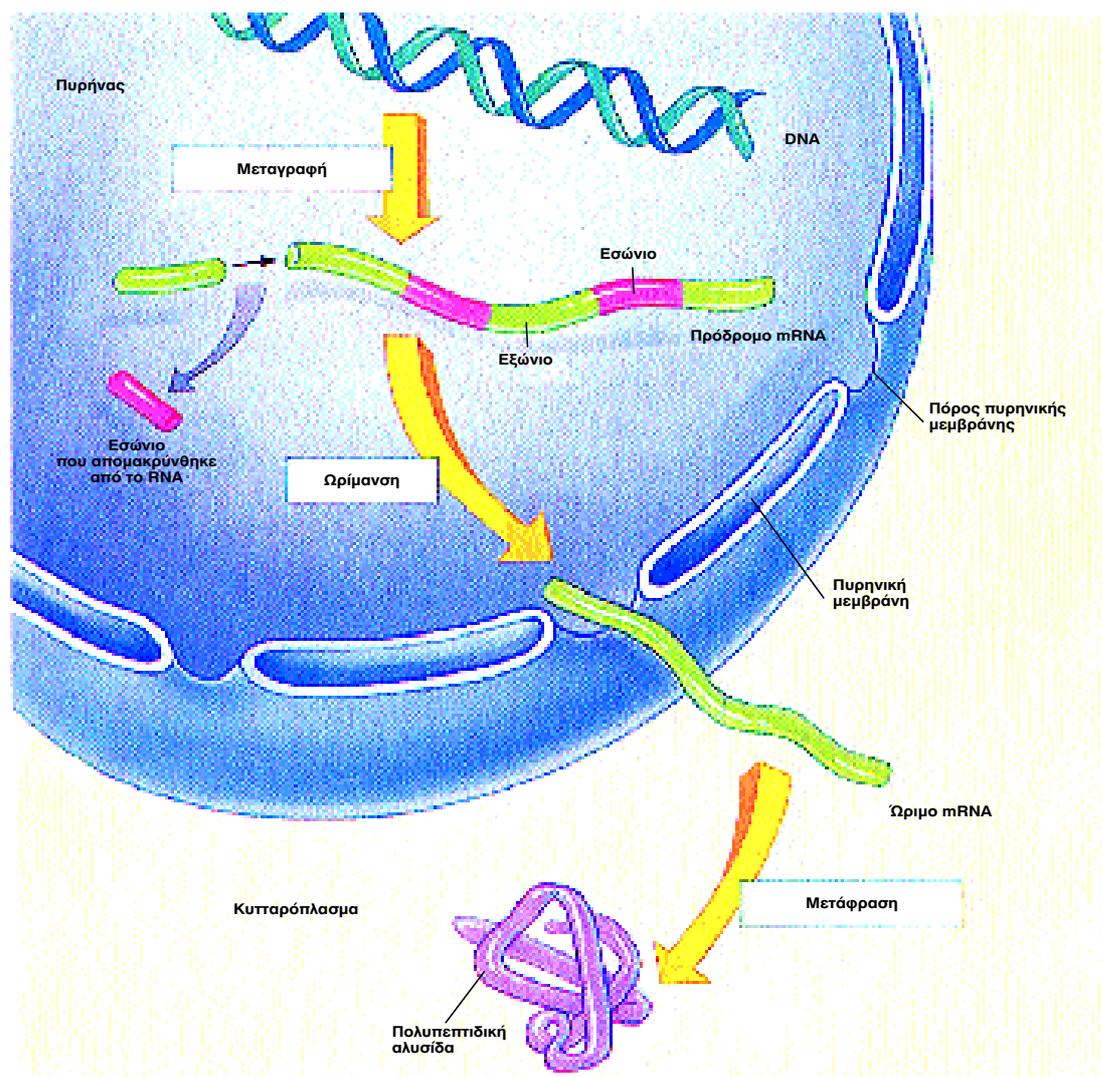
### Ο γενετικός κώδικας είναι η αντιστοίχιση τριπλετιών βάσεων σε αμινοξέα

Με τη μεταγραφή, οι πληροφορίες που βρίσκονται στα γονίδια μεταφέρονται στο mRNA με βάση τη συμπληρωματικότητα των νουκλεοτιδικών βάσεων. Η αλληλουχία των βάσεων του mRNA καθορίζει την αλληλουχία των αμινοξέ-

ων στις πρωτεΐνες με βάση έναν κώδικα αντιστοίχισης νουκλεοτιδίων RNA με αμινοξέα πρωτεϊνών ο οποίος ονομάζεται **γενετικός κώδικας**. Γι’ αυτό η πρωτεϊνσύνθεση είναι πραγματικά μία διαδικασία “μετάφρασης” από τη γλώσσα των βάσεων στη γλώσσα των αμινοξέων.

Επειδή ο αριθμός των διαφορετικών αμινοξέων που συγκροτούν τις πρωτεΐνες είναι είκοσι και, αντίστοιχα, ο αριθμός των διαφορετικών νουκλεοτιδίων που συγκροτούν το RNA είναι τέσσερα, θεωρήθηκε πιθανό ότι τρία νουκλεοτίδια αντιστοιχούν σε ένα αμινοξύ και γι’ αυτό ο γενετικός κώδικας ονομάστηκε κώδικας τριπλέτας. Ο κώδικας τριπλέτας είναι φυσική συνέπεια του γεγονότος ότι τέσσερα νουκλεοτίδια, αν συνδυαστούν ανά ένα ( $4^1=4$ ) ή ανά δύο ( $4^2=16$ ), δε δίνουν αρκετούς συνδυασμούς για να κωδικοποιηθούν τα είκοσι αμινοξέα. Αν όμως συνδυαστούν ανά τρία ( $4^3=64$ ), οι συνδυασμοί είναι παραπάνω από αρκετοί (Πίνακας 2.1).

Εικόνα 2.6 Ωρίμανση του πρόδρομου μορίου του mRNA στον πυρήνα και μεταφορά του στο κυτταρόπλασμα, στους εύκαρυωτικούς οργανισμούς.



ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1: Γενετικός κώδικας

		Δεύτερο γράμμα							
		U	C	A	G				
Πρώτο γράμμα	U	UUU } φαίνυλαλανίνη (phe) UUC } UUA } λευκίνη (leu) UUG }	UCU } σερίνη (ser) UCC } UCA } UCG }	UAU } τυροσίνη (tyr) UAC } UAA } λήξη UAG }	UGU } κυστεΐνη (cys) UGC } UGA } λήξη UGG } τρυπτοφάνη (trp)	U	C	A	G
	C	CUU } λευκίνη (leu) CUC } CUA } CUG }	CCU } προλίνη (pro) CCC } CCA } CCG }	CAU } ιστιδίνη (his) CAC } CAA } γλουταμίνη (gln) CAG }	CGU } αργινίνη (arg) CGC } CGA } CGG }	U	C	A	G
	A	AUU } ισολευκίνη (ile) AUC } AUA } AUG } μεθειονίνη (met) έναρξη	ACU } θρεονίνη (thr) ACC } ACA } ACG }	AAU } ασπαραγγίνη (asn) AAC } AAA } λυσίνη (lys) AAG }	AGU } σερίνη (ser) AGC } AGA } αργινίνη (arg) AGG }	U	C	A	G
	G	GUU } βαλίνη (val) GUC } GUA } GUG }	GCU } αλανίνη (ala) GCC } GCA } GCG }	GAU } ασπαρτικό οξύ (asp) GAC } GAA } γλουταμινικό οξύ (glu) GAG }	GGU } γλυκίνη (gly) GGC } GGA } GGG }	U	C	A	G

Τα βασικά χαρακτηριστικά του γενετικού κώδικα είναι :

1. Ο γενετικός κώδικας είναι **κώδικας τριπλέτας**, δηλαδή μια τριάδα νουκλεοτιδίων, **κωδικόνιο**, κωδικοποιεί ένα αμινοξύ.
2. Ο γενετικός κώδικας είναι **συνεχής**, δηλαδή το mRNA διαβάζεται συνεχώς ανά τρία νουκλεοτίδια χωρίς να παραλείπεται κάποιο νουκλεοτίδιο.
3. Ο γενετικός κώδικας είναι **μη επικαλυπτόμενος**, δηλαδή κάθε νουκλεοτίδιο ανήκει σε ένα μόνο κωδικόνιο.
4. Ο γενετικός κώδικας είναι **σχεδόν καθολικός**. Όλοι οι οργανισμοί έχουν τον ίδιο γενετικό κώδικα. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι το mRNA από οποιοδήποτε οργανισμό μπορεί να μεταφραστεί σε εκχυλίσματα φυτικών, ζωικών ή βακτηριακών κυττάρων *in vitro* και να παραγάγει την ίδια πρωτεΐνη. Έχουν όμως παρατηρηθεί ορισμένες διαφορές στο γενετικό κώδικα των μιτοχονδρίων των κατώτερων ευκαρυωτικών οργανισμών.
5. Ο γενετικός κώδικας χαρακτηρίζεται ως **εκφυλισμένος**. Με εξαίρεση δύο αμινοξέα (μεθειονίνη και τρυπτοφάνη) τα υπόλοιπα 18 κωδικοποιούνται από δύο μέχρι και έξι διαφορετικά κωδικόνια. Τα κωδικόνια που κωδικοποιούν το ίδιο αμινοξύ ονομάζονται **συνώνυμα**.
6. Ο γενετικός κώδικας έχει **κωδικόνιο έναρξης** και **κωδικόνια λήξης**. Το κωδικόνιο έναρξης σε όλους τους οργανισμούς είναι το AUG και κωδικοποιεί το αμινοξύ μεθειονίνη. Υπάρχουν τρία κωδικόνια λήξης, τα UAG, UGA και UAA. Η παρουσία των κωδικονίων αυτών στο μόριο του mRNA οδηγεί στον τερματισμό της σύνθεσης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

### Μια ματιά 3.6 δις χρόνια πριν

Η ανακάλυψη των ριβοζύμων έφερε ξανά στην επικαιρότητα ένα ερώτημα που για δεκαετίες ταλανίζει τους επιστήμονες: ποιο πληροφοριακό μόριο εμφανίστηκε πρώτο κατά τα αρχικά στάδια της εξέλιξης, το DNA ή τα ένζυμα; Το ερώτημα αυτό δημιουργείται, επειδή δε φαίνεται να υπάρχει επικάλυψη στις λειτουργίες που επιτελούν και τα δύο αυτά μόρια, αφού το ένα αποθηκεύει τη γενετική πληροφορία ενώ το άλλο μπορεί να καταλύει αντιδράσεις. Πώς όμως έγινε σύνθεση του DNA χωρίς ένζυμα, η πώς έγινε η σύνθεση των ενζύμων χωρίς το DNA; Μια απάντηση θα μπορούσε να είναι ότι το RNA κάνει και τις δύο λειτουργίες: μπορεί να είναι και γενετικό υλικό και να καταλύει αντιδράσεις, άρα μπορεί να είναι αυτό το πληροφοριακό μακρομόριο που πρωτοεμφανίστηκε. Μόνο αργότερα, όταν αυτές οι ενεργότητες «μοιράστηκαν» στο DNA και στις πρωτεΐνες, απέμεινε στο RNA η λειτουργία του συνδέσμου μεταξύ των δύο μορίων κατά τη ροή της γενετικής πληροφορίας.

Η ανακάλυψη της ενζυμικής δράσης ορισμένων μορίων RNA μπορεί να έχει και πρακτικές εφαρμογές. Οι ερευνητές ελπίζουν ότι θα μπορέσουν να συνθέσουν ριβόζυμα, τα οποία θα αναγνωρίζουν και θα καταστρέφουν ορισμένα RNA, όπως αυτά που συνθέτονται από τον ιό του AIDS, αφήνοντας ανεπηρέαστο το RNA του κυττάρου. Το πρώτο ριβόζυμο που υπόκειται σε κλινικές δοκιμές θα δοκιμαστεί εναντίον του ιού του έρπητα.

### Αποκρυπτογραφώντας το γενετικό κώδικα

Η ακριβής αντιστοίχιση κωδικονίων με αμινοξέα έγινε κυρίως με τη μέθοδο των συνθετικών πολυνουκλεοτιδίων. Η μέθοδος αυτή εφαρμόστηκε αρχικά από τον Nirenberg, ο οποίος χρησιμοποίησε πολυουριδίνη (polyU) ως mRNA σε κυτταρικό εκχύλισμα του βακτηρίου *E. coli*, που έχει τα απαραίτητα συστατικά για τη μετάφραση του συνθετικού πολυνουκλεοτιδίου. Το πολυπεπτίδιο που παράχθηκε ήταν πολυφαινυλαλανίνη. Έτσι αποδείχτηκε ότι το κωδικόνιο UUU κωδικοποιεί το αμινοξύ φαινυλαλανίνη. Μετά την επιτυχία της μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν και άλλα συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια από τον Khorana (γνωστά ως mRNA του Khorana) και έτσι ανακαλύφθηκαν τα περισσότερα κωδικόνια. Με τα πειράματα αυτά διαπιστώθηκε και αρκετά άλλα ότι 61 από τα 64 κωδικόνια κωδικοποιούν από ένα αμινοξύ, ενώ τα τρία που απομένουν, UAA, UGA και UAG, δεν κωδικοποιούν αμινοξέα και χρησιμοποιούνται ως κωδικόνια λήξης της μετάφρασης.

Ο όρος κωδικόνιο δεν αφορά μόνο το mRNA αλλά και το γονίδιο από το οποίο παράγεται. Έτσι, για παράδειγμα, το κωδικόνιο έναρξης AUG αντιστοιχεί στο κωδικόνιο έναρξης του γονιδίου ATG κ.ο.κ.

Η αλληλουχία βάσεων ενός γονιδίου, και του mRNA του, που κωδικοποιεί μια πολυπεπτιδική αλυσίδα, αρχίζει με το κωδικόνιο έναρξης και τελειώνει με το κωδικόνιο λήξης. Η διαδρομή με βήμα τριπλέτας από το κωδικόνιο έναρξης μέχρι το κωδικόνιο λήξης ορίζεται ως **πλαίσιο ανάγνωσης**.

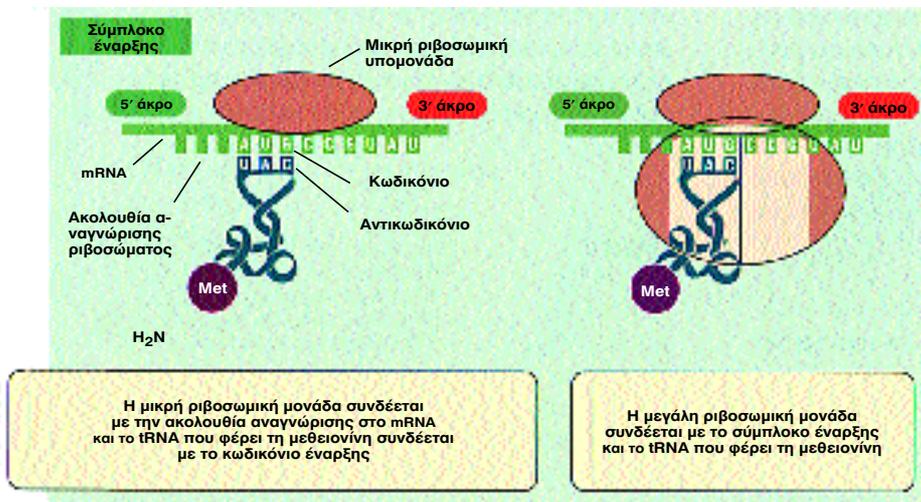
### Μετάφραση

Η μετάφραση του mRNA, δηλαδή η αντιστοίχιση των κωδικονίων σε αμινοξέα και η διαδοχική σύνδεση των αμινοξέων σε πολυπεπτιδική αλυσίδα, πραγματοποιείται στα ριβοσώματα με τη βοήθεια των tRNA και τη συμμετοχή αρκετών πρωτεϊνών και ενέργειας. Τα ριβοσώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θέση μετάφρασης για οποιοδήποτε mRNA. Αυτό εξηγεί γιατί τα βακτήρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως “εργοστάσια παραγωγής ανθρώπινων πρωτεϊνών”.

Κάθε ριβόσωμα αποτελείται από δύο υπομονάδες, μια μικρή και μια μεγάλη, και έχει μία θέση πρόσδεσης του mRNA στη μικρή υπομονάδα και δύο θέσεις εισδοχής των tRNA στη μεγάλη υπομονάδα. Κάθε μόριο tRNA έχει μια ειδική τριπλέτα νουκλεοτιδίων, το **αντικωδικόνιο**, με την οποία προσδένεται, λόγω συμπληρωματικότητας, με το αντίστοιχο κωδικόνιο του mRNA. Επιπλέον, κάθε μόριο tRNA διαθέτει μια ειδική θέση σύνδεσης με ένα συγκεκριμένο αμινοξύ.

Η πρωτεϊνοσύνθεση διακρίνεται σε τρία στάδια: την έναρξη, την επιμήκυνση και τη λήξη.

**Έναρξη:** Κατά την έναρξη της μετάφρασης το mRNA συνδέεται μέσω μιας αλληλουχίας που υπάρχει στην 5’-μετάφραση περιοχή του, με το ριβοσωμικό RNA της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος, σύμφωνα με τους κανόνες της συμπληρωματικότητας των βάσεων. Το πρώτο κωδικόνιο του mRNA είναι πάντοτε AUG και σ’ αυτό προσδένεται το tRNA που φέρει το αμινοξύ μεθειονίνη. Ομως δεν έχουν όλες οι πρωτεΐνες του οργανισμού ως πρώτο αμινοξύ μεθειονίνη. Αυτό συμβαίνει, γιατί σε πολλές πρωτεΐνες, μετά τη σύνθεσή τους απομακρύνονται ορισμένα αμινοξέα από το αρχικό αμινοτικό άκρο τους. Το σύμπλοκο που δημιουργείται μετά την πρόσδεση του mRNA στη μικρή υπομονάδα του ριβοσώματος και του tRNA που



Εικόνα 2.9 Η πρωτεϊνοσύνθεση αρχίζει με το σχηματισμό ενός συμπλόκου έναρξης.

μεταφέρει τη μεθειονίνη ονομάζεται **σύμπλοκο έναρξης** της πρωτεϊνοσύνθεσης (Εικόνα 2.9).

**Επιμήκυνση:** Κατά την επιμήκυνση η μεγάλη υπομονάδα συνδέεται με τη μικρή και ένα δεύτερο μόριο tRNA με αντικωδικόνιο συμπληρωματικό του δεύτερου κωδικονίου του mRNA τοποθετείται στην κατάλληλη εισδοχή του ριβοσώματος, μεταφέροντας το δεύτερο αμινοξύ. Μεταξύ της μεθειονίνης και του δεύτερου αμινοξέος σχηματίζεται πεπτιδικός δεσμός και αμέσως μετά το πρώτο tRNA αποσυνδέεται από το ριβόσωμα και απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα όπου συνδέεται πάλι με μεθειονίνη, έτοιμο για επόμενη χρήση. Το ριβόσωμα και το mRNA έχουν τώρα ένα tRNA, πάνω στο οποίο είναι προσδεμένα δύο αμινοξέα. Έτσι αρχίζει η επιμήκυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

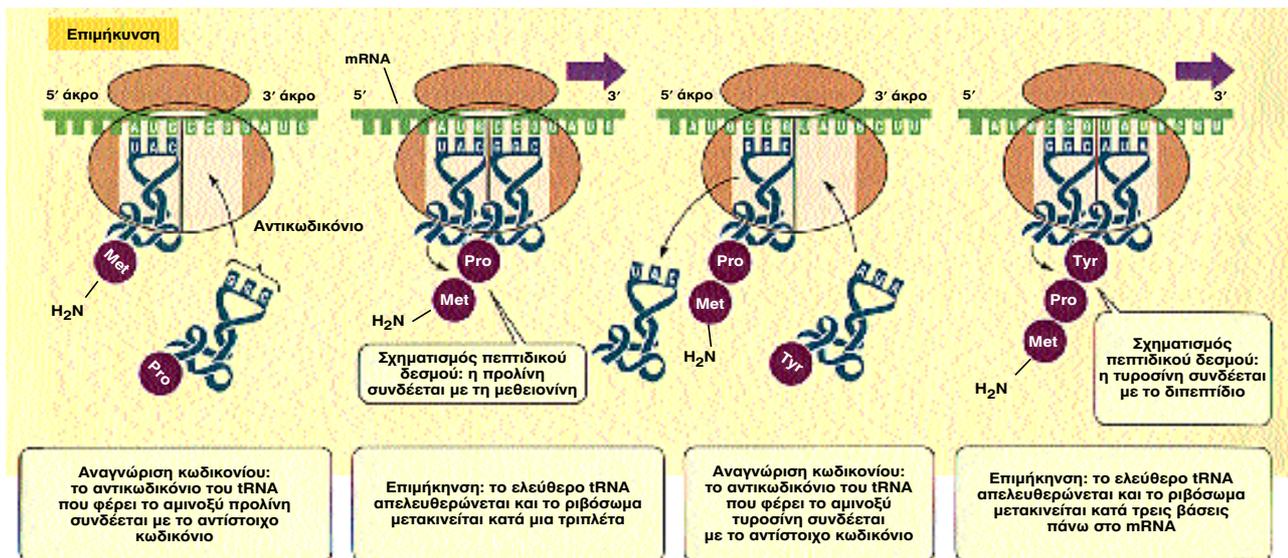
Στη συνέχεια το ριβόσωμα κινείται κατά μήκος του mRNA κατά ένα κωδικόνιο. Ένα τρίτο tRNA έρχεται να προ-

οδεθεί μεταφέροντας το αμινοξύ του. Ανάμεσα στο δεύτερο και στο τρίτο αμινοξύ σχηματίζεται πεπτιδικός δεσμός. Η πολυπεπτιδική αλυσίδα συνεχίζει να αναπτύσσεται, καθώς νέα tRNA φέρουν αμινοξέα τα οποία προσδένονται μεταξύ τους (Εικόνα 2.10).

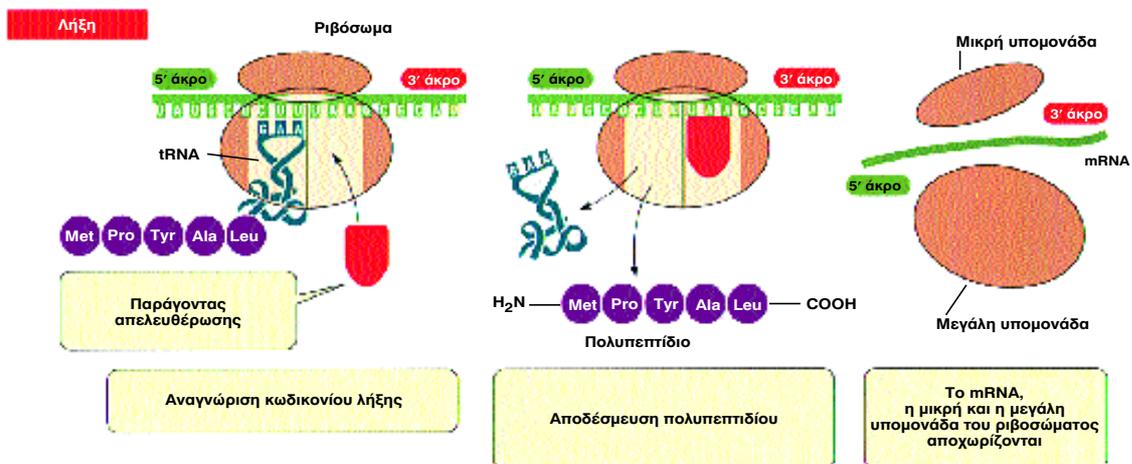
**Λήξη:** Η επιμήκυνση σταματά σε ένα κωδικόνιο λήξης (UGA, UAG ή UAA), επειδή δεν υπάρχουν tRNA που να αντιστοιχούν σε αυτά. Το τελευταίο tRNA απομακρύνεται από το ριβόσωμα, και η πολυπεπτιδική αλυσίδα απελευθερώνεται από το ριβόσωμα (Εικόνα 2.11).

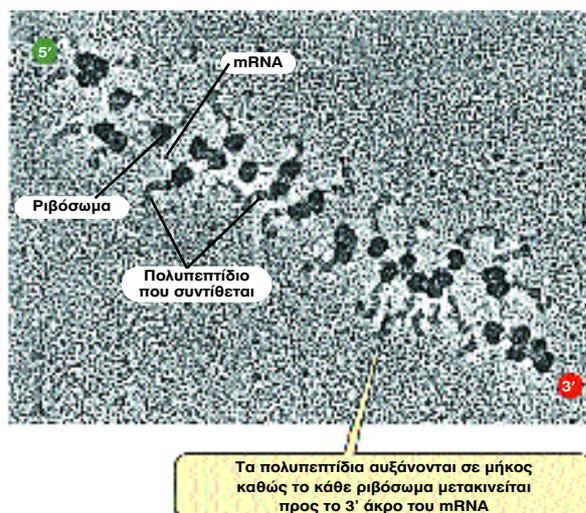
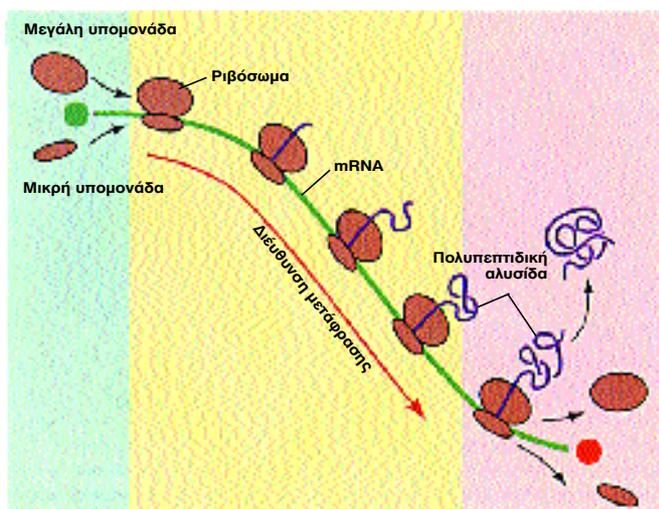
Σημειώνεται ότι πολλά μόρια mRNA μπορούν να μεταγράφονται από ένα μόνο γονίδιο. Πολλά ριβοσώματα μπορούν να μεταφράζουν ταυτόχρονα ένα mRNA, το καθένα σε διαφορετικό σημείο κατά μήκος του μορίου. Α-

Εικόνα 2.10. Μετάφραση: Επιμήκυνση της πρωτεϊνοσύνθεσης.



Εικόνα 2.11. Λήξη της πρωτεϊνοσύνθεσης.





Εικόνα 2.12. α) Ένα πολύσωμα αποτελείται από πολλά ριβοσώματα τα οποία προσδένονται κατά μήκος ενός μορίου mRNA και το μεταφράζουν β) Εικόνα ενός πολυσώματος στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

μέσω μόλις το ριβόσωμα έχει μεταφράσει τα πρώτα κωδικόνια, η θέση έναρξης του mRNA είναι ελεύθερη για την πρόσδεση ενός άλλου ριβοσώματος. Το σύμπλεγμα των ριβοσωμάτων με το mRNA ονομάζεται **πολύσωμα**

(Εικόνα 2.12). Έτσι, η πρωτεϊνοσύνθεση είναι μια “οικονομική διαδικασία”. Ένα κύτταρο μπορεί να παράγει μεγάλα ποσά μιας πρωτεΐνης από ένα ή από δύο αντίγραφα ενός γονιδίου.

## Περίληψη

Ο μηχανισμός της αντιγραφής του DNA είναι ημισυντηρητικός, δηλαδή οι δύο αλυσίδες της διπλής έλικας ξετυλίγονται και καθεμιά λειτουργεί σαν καλούπι για τη σύνθεση μιας νέας συμπληρωματικής αλυσίδας. Κάθε θυγατρική διπλή έλικα που προκύπτει αποτελείται από μία μητρική και από μία νέα αλυσίδα. Η αντιγραφή του DNA είναι μια πολύπλοκη ενζυμική πορεία, που καταλύεται από πολλά ένζυμα. Η σύνθεση της μιας αλυσίδας είναι συνεχής, ενώ της άλλης ασυνεχής. Η έναρξη της αντιγραφής γίνεται από ένα σημείο του DNA στους προκαρυωτικούς οργανισμούς και από πολλά στους ευκαρυωτικούς.

Ο μηχανισμός με τον οποίο η πληροφορία που υπάρχει στο DNA καθορίζει την αλληλουχία των αμινοξέων στις πρωτεΐνες, περιλαμβάνει δύο διαδικασίες: τη μεταγραφή και τη μετάφραση. Η μεταγραφή καταλύεται από την RNA πολυμεράση και γίνεται με κατεύθυνση 5' → 3'. Κατά τη μεταγραφή παράγονται τρία είδη RNA: το mRNA, το tRNA και το rRNA στους προκαρυωτικούς και ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Επιπρόσθετα μόνο στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς παράγεται και snRNA .

Στους προκαρυωτικούς οργανισμούς η μεταγραφή και η μετάφραση γίνονται σχεδόν ταυτόχρονα. Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς τα περισσότερα γονίδια, που αποτελούνται από κωδικές (εξώνια) και μη κωδικές (εσώνια) περιοχές, μεταγράφονται σε ένα πρόδρομο mRNA, το οποίο υφίσταται τη διαδικασία της ωρίμανσης: τα εσώνια αποκόπτονται και τα εξώνια συρράβονται. Το ώριμο mRNA, που αποτελείται μόνο από τα εξώνια, μεταφέρεται στο κυτταρόπλασμα, όπου γίνεται η πρωτεϊνοσύνθεση.

Η αντιστοίχιση των νουκλεοτιδίων του mRNA με τα αμινοξέα των πρωτεϊνών γίνεται μέσω του γενετικού κώδικα, και κάθε κωδικόνιο-τριπλέτα του mRNA αντιστοιχεί σε ένα αμινοξύ.

Η πρωτεϊνοσύνθεση έχει τρία στάδια: την έναρξη την επιμήκυνση και τη λήξη. Κατά την έναρξη το mRNA συνδέεται με το ριβόσωμα και το πρώτο tRNA που μεταφέρει το αμινοξύ μεθειονίνη προσδένεται με το αντικωδικόνιο του στο κωδικόνιο έναρξης. Κατά την επιμήκυνση τα tRNA μεταφέρουν τα αμινοξέα που αντιστοιχούν στα κωδικόνια του mRNA, τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με πεπτιδικούς δεσμούς. Έτσι, αναπτύσσεται η πολυπεπτιδική αλυσίδα. Στο κωδικόνιο λήξης σταματά η πρωτεϊνοσύνθεση και απελευθερώνεται η πολυπεπτιδική αλυσίδα. Πολλά ριβοσώματα κινούνται κατά μήκος του mRNA ταυτόχρονα, καθώς αυτό μεταφράζεται, και αποτελούν το πολύσωμα.

## Ερωτήσεις

1. Ένα κύτταρο που περιέχει ένα μόνο χρωμόσωμα τοποθετείται σε θρεπτικό υλικό που περιέχει ραδιενεργό φώσφορο. Έτσι κάθε νέος κλώνος DNA που συντίθεται κατά την αντιγραφή του DNA θα είναι ραδιενεργός. Το κύτταρο αντιγράφει το DNA του και μετά διαιρείται. Τα θυγατρικά κύτταρα που βρίσκονται ακόμη στο ραδιενεργό θρεπτικό μέσο αντιγράφουν το DNA τους και διαιρούνται για άλλη μια φορά, οπότε έχουμε συνολικά τέσσερα κύτταρα. Σχεδιάστε το DNA σε κάθε ένα από τα 4 κύτταρα, παριστάνοντας το μη ραδιενεργό DNA με μια συνεχή γραμμή και το ραδιενεργό με διακεκομμένη γραμμή.

2. Γιά ποιό λόγο είναι απαραίτητο το ξετύλιγμα της έλικας του DNA πριν από την αντιγραφή; Ποιο είναι το ένζυμο που βοηθάει στο ξετύλιγμα;

3. Να τοποθετήσετε τα παρακάτω ένζυμα στη σειρά με την οποία συμμετέχουν στον διπλασιασμό του DNA.  
α. DNA δεσμάση, β. DNA πολυμεράση, και γ. DNA ελικάση.

4. Ποια από τις παρακάτω πορείες καταλύεται από το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφή;  
α. RNA → DNA  
β. DNA → RNA  
γ. RNA → RNA  
δ. DNA → DNA  
ε. RNA → πρωτεΐνη

5. Αν το 20% των βάσεων ενός δίκλωνου τμήματος βακτηριακού DNA είναι αδενίνη-θυμίνη ποιο θα είναι το ποσοστό των βάσεων γουανίνη - κυτοσίνη του RNA που μεταγράφεται από αυτό το DNA;  
α. 20% β. 60% γ. 80% δ. 40% ε. 30%

6. Σε ποιά στάδια της ροής της γενετικής πληροφορίας βρίσκει εφαρμογή η συμπληρωματικότητα των βάσεων;

7. Μία μεταγραφόμενη αλυσίδα βακτηριακού DNA έχει την παρακάτω αλληλουχία βάσεων: 3'-TAC TGC ATA ATG ATT-5'. Ποια είναι η ακολουθία βάσεων της συμπληρωματικής αλυσίδας DNA; Ποια θα είναι η αλληλουχία των κωδικονίων στο mRNA που μεταγράφεται από αυτή την αλυσίδα; Ποιά τα ακριβή αντικωδικόνια για κάθε κωδικόνιο του RNA; Χρησιμοποιήστε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα για να καθορίσετε την ακολουθία των αμινοξέων του πεπτιδίου που θα συντεθεί από το mRNA. Μην παραλείψετε να συμπληρώσετε τα 5' και 3' άκρα των νουκλεϊκών οξέων.

8. Να συμπληρώσετε τις βάσεις και τα αμινοξέα στον παρακάτω πίνακα: (Να χρησιμοποιηθεί ο πίνακας με το γενετικό κώδικα, από τον οποίο θα επιλέξετε μόνο ένα κωδικόνιο για κάθε αμινοξύ.)

Δίκλωνη αλυσίδα DNA	5' G		AA		3' (κωδική)
	TA				CT
mRNA			U		U
Αντικωδικόνιο					
Αμινοξέα		Λευκίνη		Φαινυλαλανίνη	

9. Το μόριο της αιμοσφαιρίνης A του ανθρώπου αποτελείται από 4 πολυπεπτιδικές αλυσίδες, δύο α όμοιες μεταξύ τους με 141 αμινοξέα η κάθε μία και δύο β όμοιες μεταξύ τους με 146 αμινοξέα η κάθε μία.

α. πόσα είδη mRNA είναι υπεύθυνα για την σύνθεση των τεσσάρων πολυπεπτιδικών αλυσίδων;  
β. από πόσες βάσεις αποτελείται η αλληλουχία του mRNA που αντιστοιχεί στις παραπάνω αλυσίδες;

10. Από πρόδρομα ερυθρά αιμοσφαίρια απομονώνουμε mRNA που κωδικοποιεί τη β-αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης A και το βάζουμε σε εκύλισμα βακτηριακών κυττάρων. Παρατηρούμε σύνθεση β αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης. Εξηγήστε το φαινόμενο.

11. Συμπληρώστε με τις σωστές λέξεις στις παρακάτω προτάσεις:

α. Οι πρωτεΐνες αποτελούνται από ..... διαφορετικά είδη αμινοξέων, τα οποία είναι τοποθετημένα σε .....

β. Μία ..... είναι μια σειρά τριών βάσεων στο μόριο του DNA. Κωδικοποιεί ένα .....

γ. Η πρωτεϊνοσύνθεση πραγματοποιείται σε δομές του κυτταροπλάσματος που ονομάζονται .....

δ. Ένα μόριο ..... είναι "αντίγραφο" τμήματος του ..... και μεταφέρει την γενετική πληροφορία από τον πυρήνα στα .....

ε. Η αλληλουχία των ..... στο ..... καθορίζει την ακολουθία των ..... στην πρωτεΐνη.

# Γονιδιακή ρύθμιση: Ο έλεγχος της γονιδιακής έκφρασης

## Η έκφραση των γονιδίων ρυθμίζεται με διάφορους μηχανισμούς

Ο όρος γονιδιακή έκφραση αναφέρεται συνήθως σε όλη τη διαδικασία με την οποία ένα γονίδιο ενεργοποιείται, για να παραγάγει μια πρωτεΐνη. Όμως σε κάθε κύτταρο δεν παράγονται όλες οι πρωτεΐνες σε κάθε χρονική στιγμή. Επιπλέον, επειδή το κύτταρο χρειάζεται κάθε πρωτεΐνη σε συγκεκριμένη ποσότητα, οι πρωτεΐνες ενός κυττάρου δεν παράγονται σε ίσες ποσότητες. Αν λοιπόν όλα τα γονίδια δούλευαν με τον ίδιο ρυθμό, ορισμένες πρωτεΐνες θα παράγονταν σε μεγάλες ποσότητες και άλλες σε ποσότητες που δε θα επαρκούσαν. Έτσι, είναι απαραίτητη η ύπαρξη και η λειτουργία ενός προγράμματος ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης, που παρέχει τις οδηγίες για το είδος και την ποσότητα των πρωτεϊνών οι οποίες πρέπει να παραχθούν σε κάθε συγκεκριμένη χρονική στιγμή.

Στα βακτήρια η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης αποσκοπεί κυρίως στην προσαρμογή του οργανισμού στις εναλλαγές του περιβάλλοντος, έτσι ώστε να εξασφαλίζονται οι καλύτερες συνθήκες για τη βασική λειτουργία του που είναι η αύξηση και η διαίρεση.

Τα κύτταρα ενός πολυκύτταρου οργανισμού, σε αντίθεση με τα βακτήρια που είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους, διαφέρουν στη δομή και στη λειτουργία τους. Η ζωή αρχίζει, όταν ένα γονιμοποιημένο ωάριο διαιρείται με μίτωση και παράγει τρισεκατομμύρια κύτταρα, που έχουν τα ίδια γονίδια. Στα αρχικά στάδια της εμβρυογένεσης τα κύτταρα εξειδικεύονται, για να εκτελέσουν επιμέρους λειτουργίες και η διαδικασία αυτή ονομάζεται **κυτταρική διαφοροποίηση**. Τα κύτταρα ενός πολύπλοκου πολυκύτταρου οργανισμού, όπως τα νευρικά, τα μυϊκά, τα ηπατικά, διαφέρουν στη μορφή και στη λειτουργία τους, αλλά έχουν όλα το ίδιο γενετικό υλικό, άρα και τα ίδια γονίδια. Τι τα κάνει τότε να διαφέρουν τόσο πολύ; Μολονότι όλα τα κύτταρα έχουν τις ίδιες γενετικές οδηγίες, έχουν αναπτύξει μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να εκφράζουν τη γενετική τους πληροφορία επιλεκτικά και να ακολουθούν μόνο τις οδηγίες που χρειάζονται κάθε χρονική στιγμή. Κάθε κυτταρικός τύπος έχει εξειδικευμένη λειτουργία και πρέπει να υπάρχει πλήρης συντονισμός των λειτουργιών όλων των κυττάρων. Γι' αυτό, η τελειοποίηση των συστημάτων ελέγχου είναι αναγκαία και λόγω της μεγαλύτερης πολυπλοκότητας των ευκαρυωτικών κυττάρων, αλλά και επειδή πρέπει να ελεγχθεί προσεκτικά η ανάπτυξη των πολυκύτταρων οργανισμών. Κατά συνέπεια, η ρύθμιση των γονιδίων στα ευκαρυωτικά κύτταρα γίνεται σε πολλά επίπεδα.

## Η γονιδιακή ρύθμιση στους προκαρυωτικούς οργανισμούς

Ένα βακτηριακό κύτταρο *E. coli* έχει περίπου 3000 γονίδια. Μερικά γονίδια μεταγράφονται συνεχώς και κωδικοποιούν πρωτεΐνες, που χρειάζονται για τις βασικές λειτουργίες του κυττάρου. Άλλα γονίδια μεταγράφονται μόνο όταν το κύτταρο αναπτύσσεται σε ειδικές περιβαλλοντικές συνθήκες, επειδή τα προϊόντα των γονιδίων αυτών είναι απαραίτητα για την επιβίωση του κυττάρου στις συνθήκες αυτές. Ένα παράδειγμα είναι το εξής: τα βακτήρια *E. coli* χρησιμοποιούν ως πηγή άνθρακα το σάκχαρο γλυκόζη. Γεννιέται λοιπόν το ερώτημα: αν στο περιβάλλον αντί για γλυκόζη υπάρχει ο δισακχαρίτης λακτόζη, το βακτήριο έχει τη δυνατότητα να τον διασπάσει, για να επιβιώσει ή θα πεθάνει, μολονότι γύρω του υπάρχει άφθονη τροφή; Το βακτήριο λύνει το πρόβλημα αυτό ρυθμίζοντας την παραγωγή των κατάλληλων ενζύμων, που θα διασπάσουν την λακτόζη σε γλυκόζη και γαλακτόζη.

Οι μηχανισμοί με τους οποίους ένα κύτταρο “ξυπνά” ένα “κοιμισμένο” γονίδιο είναι οι πιο σημαντικοί και πολύπλοκοι της Μοριακής Βιολογίας. Οι αρχικές μελέτες της ρύθμισης των γονιδίων έγιναν από τους Jacob και Monod, το 1961. Οι ερευνητές περιέγραψαν την ικανότητα του βακτηρίου *E. coli* να παραγάγει τα τρία απαραίτητα ένζυμα που χρειάζεται, για να μεταβολίσει το δισακχαρίτη λακτόζη, όταν δεν υπάρχει άλλη πηγή άνθρακα στην τροφή του. Οι Jacob και Monod απέδειξαν με γενετικές μελέτες ότι τα γονίδια που κωδικοποιούν τα τρία αυτά ένζυμα βρίσκονται το ένα δίπλα στο άλλο πάνω στο γονιδίωμα του βακτηρίου και αποτελούν μια μονάδα, που την ονόμασαν **οπερόνιο της λακτόζης**.

Σε αυτό περιλαμβάνονται εκτός από αυτά τα γονίδια, που ονομάζονται **δομικά**, και αλληλουχίες DNA που ρυθμίζουν τη μεταγραφή τους. Οι αλληλουχίες αυτές που βρίσκονται μπροστά από τα δομικά γονίδια είναι κατά σειρά ένα **ρυθμιστικό γονίδιο**, ο **υποκινητής** και ο **χειριστής**.

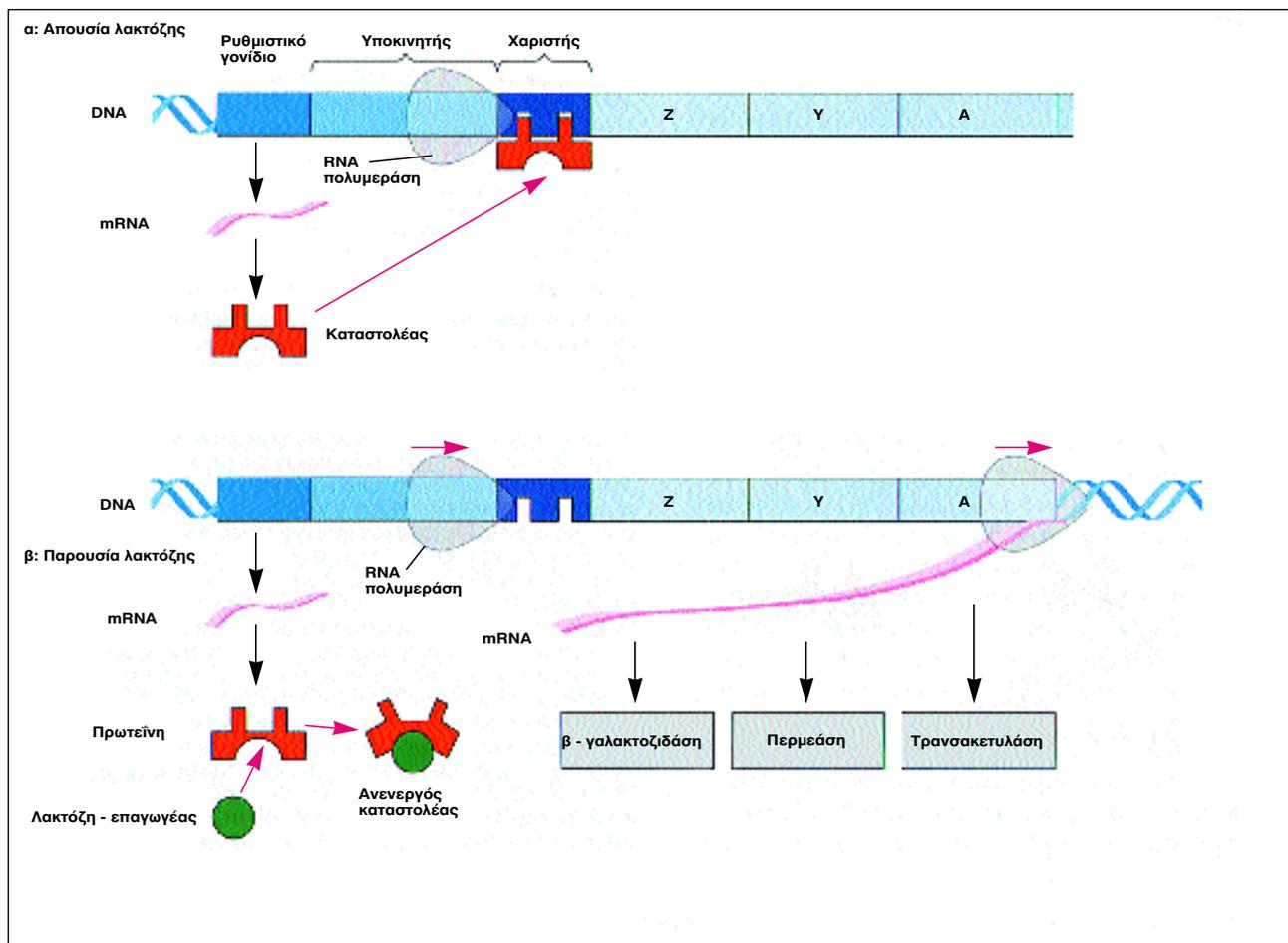
Το οπερόνιο της λακτόζης δε μεταγράφεται ούτε μεταφράζεται, όταν απουσιάζει από το θρεπτικό υλικό η λακτόζη. Τότε λέμε ότι τα γονίδια που το αποτελούν βρίσκονται υπό **καταστολή**. Πώς επιτυγχάνεται η καταστολή; Δύο είναι τα ρυθμιστικά μόρια: μια αλληλουχία DNA, που ονομάζεται χειριστής και βρίσκεται μεταξύ του υποκινητή και του πρώτου γονιδίου, και μια ρυθμιστική **πρωτεΐνη-καταστολέας**. Όταν απουσιάζει η λακτόζη ο καταστολέας προσδένεται ισχυρά στο χειριστή και εμποδίζει την RNA πολυμεράση να αρχίσει τη μετάγραφή των γονιδίων του οπερονίου. (Εικόνα 2.13α). Ο καταστολέας κωδικοποιείται από ένα ρυθμιστικό γονίδιο, που βρίσκεται μπροστά από τον υποκινητή. Το ρυθμιστικό γονίδιο μεταγράφεται συνεχώς και παράγει λίγα μόρια του καταστολέα. Τα μόρια αυτά προσδένονται συνεχώς στο χειριστή.

Όταν στο θρεπτικό υλικό υπάρχει μόνο λακτόζη, τότε

ο ίδιος ο διασκαρής προσδένεται στον καταστολέα και δεν του επιτρέπει να προσδεθεί στο χειριστή. Τότε η RNA πολυμεράση είναι ελεύθερη να προσδεθεί στον υποκινητή και να αρχίσει τη μεταγραφή. Δηλαδή η λακτόζη λειτουργεί ως **επαγωγέας** της μεταγραφής των γονιδίων του οπερονίου. Τότε τα γονίδια αρχίζουν να “εκφράζονται”, δηλαδή να μεταγράφονται και να συνθέτουν τα ένζυμα. Τα τρία ένζυμα μεταφράζονται ταυτόχρονα από το ίδιο μόριο mRNA το οποίο περιέχει κωδικόνια έναρξης και λήξης για κάθε ένζυμο (Εικόνα 2.13 β). Συμπερασματικά, η ίδια η λακτόζη ενεργοποιεί τη διαδικασία για την αποικοδόμησή της. Όταν η λακτόζη διασπαστεί πλήρως, τότε η πρωτεΐνη καταστολέας είναι ελεύθερη να προσδεθεί στο χειριστή και να καταστείλει τη λειτουργία των τριών γονιδίων.

Στο γονιδίωμα των προκαρυωτικών οργανισμών τα γονίδια των ενζύμων που παίρνουν μέρος σε μια μεταβολική οδό, όπως η διάσπαση της λακτόζης, ή η βιοσύνθεση διάφορων αμινοξέων, οργανώνονται σε οπερόνια, δηλαδή σε ομάδες που υπόκεινται σε κοινό έλεγχο της έκφρασής τους.

Εικόνα 2.13. Το οπερόνιο της λακτόζης.



## Η γονιδιακή ρύθμιση στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς

Η ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων στα ευκαρυωτικά κύτταρα γίνεται με ιδιαίτερα πολύπλοκους μηχανισμούς και αποτελεί σήμερα αντικείμενο εντατικής ερευνητικής μελέτης. Η πλήρης διαλεύκανση των μηχανισμών αυτών θα δώσει απαντήσεις για το πώς, όταν οι μηχανισμοί αυτοί απορρυθμίζονται, τα κύτταρα “βγαίνουν” από το αυστηρό πρόγραμμα της λειτουργίας τους και γίνονται καρκινικά.

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα η γονιδιακή έκφραση ρυθμίζεται σε τέσσερα επίπεδα:

- **Στο επίπεδο της μεταγραφής.** Ενας αριθμός μηχανισμών ελέγχουν ποιά γονίδια θα μεταγραφούν ή/και με ποια ταχύτητα θα γίνει η μεταγραφή. Το DNA των ευκαρυωτικών κυττάρων δεν οργανώνεται σε οπερόνια αλλά κάθε γονίδιο έχει το δικό του υποκινητή και μεταγράφεται αυτόνομα. Η RNA πολυμεράση λειτουργεί (όπως και στους προκαρυωτικούς οργανισμούς) με τη βοήθεια πρωτεϊνών, που ονομάζονται μεταγραφικοί παράγοντες. Μόνο που

στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς οι μεταγραφικοί παράγοντες παρουσιάζουν τεράστια ποικιλία. Κάθε κυτταρικός τύπος περιέχει διαφορετικά είδη μεταγραφικών παραγόντων. Διαφορετικός συνδυασμός μεταγραφικών παραγόντων ρυθμίζει τη μεταγραφή κάθε γονιδίου. Μόνο όταν ο σωστός συνδυασμός των μεταγραφικών παραγόντων προσδεθεί στον υποκινητή ενός γονιδίου, αρχίζει η RNA πολυμεράση τη μεταγραφή ενός γονιδίου.

- **Στο επίπεδο μετά τη μεταγραφή.** Περιλαμβάνονται οι μηχανισμοί με τους οποίους γίνεται η ωρίμανση του πρόδρομου mRNA και επίσης η ταχύτητα με την οποία το ώριμο mRNA αφήνει τον πυρήνα και εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα.
- **Στο επίπεδο της μετάφρασης.** Ο χρόνος που “ζούν” τα μόρια mRNA στο κυτταρόπλασμα δεν είναι ο ίδιος για όλα τα είδη RNA, επειδή μετά από κάποιο χρονικό διάστημα αποικοδομούνται. Επίσης, ποικίλλει και η ικανότητα πρόσδεσης του mRNA στα ριβοσώματα.
- **Στο επίπεδο μετά τη μετάφραση.** Ακόμη και όταν γίνει η πρωτεϊνοσύνθεση και παραχθεί η κατάλληλη πρωτεΐνη, μπορεί να πρέπει να υποστεί τροποποιήσεις, για να γίνει βιολογικά λειτουργική.

### Εργασίες - Δραστηριότητες

Χρησιμοποιώντας απλά υλικά όπως χαρτόνι κατασκευάστε μοντέλο DNA το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εποπτικό υλικό για την κατανόηση των λειτουργιών της αντιγραφής και της μεταγραφής.

### Περίληψη

Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης στους προκαρυωτικούς οργανισμούς γίνεται κυρίως στο επίπεδο της μεταγραφής. Τα ρυθμιζόμενα γονίδια οργανώνονται σε οπερόνια, από τα οποία πιο γνωστό είναι το οπερόνιο της λακτόζης. Το οπερόνιο της λακτόζης αποτελείται από τρία δομικά γονίδια που κωδικοποιούν τα ένζυμα τα οποία διασπούν τη λακτόζη. Αυτά ρυθμίζονται από δύο αλληλουχίες DNA: έναν υποκινητή και ένα χειριστή. Ο χειριστής παίζει το ρόλο του μοριακού διακόπτη του οπερονίου. Σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση παίζει ένα ρυθμιστικό γονίδιο, που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη-καταστολέα. Εάν απουσιάζει η λακτόζη ο καταστολέας προσδένεται στο χειριστή και καταστέλλει την λειτουργία και των τριών γονιδίων. Εάν υπάρχει λακτόζη, αυτή προσδένεται στον καταστολέα, εμποδίζει την πρόσδεσή του στον χειριστή και επιτρέπει τη μεταγραφή και τη μετάφραση των τριών γονιδίων. Στους πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς τα γονίδια δεν οργανώνονται σε οπερόνια, αλλά καθένα ρυθμίζεται ανεξάρτητα. Ο έλεγχος της ρύθμισης είναι πολύ πιο πολύπλοκος και γίνεται σε τέσσερα επίπεδα: κατά τη μεταγραφή, μετά τη μεταγραφή, κατά τη μετάφραση και μετά τη μετάφραση.

### Ερωτήσεις

1. Εντοπίστε δύο διαφορές στον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης ανάμεσα στους προκαρυωτικούς και στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς
2. Τι είναι το οπερόνιο; Σε ποιους οργανισμούς συναντάται;
3. Στο οπερόνιο της λακτόζης ο καταστολέας προσδένεται :
  - α. στον υποκινητή
  - β. στην αρχή του πρώτου γονιδίου
  - γ. στον χειριστή
  - δ. στο mRNA
  - ε. στο ρυθμιστικό γονίδιο
4. Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς η περιοχή του γονιδίου που μεταφράζεται είναι :
  - α. το οπερόνιο
  - β. ο υποκινητής
  - γ. ο χειριστής
  - δ. τα εσώνια
  - ε. τα εξώνια
  - στ. ο καταστολέας
5. Ποιά από τις παρακάτω προτάσεις που αφορούν τον υποκινητή είναι σωστή:
  - α. είναι η περιοχή στην οποία προσδένεται ο καταστολέας
  - β. είναι η περιοχή που προσδένεται η RNA πολυμεράση
  - γ. είναι το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη καταστολέα
  - δ. είναι ένα δομικό γονίδιο
  - ε. είναι ένα οπερόνιο

6. Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης είναι πιο πολύπλοκη στους πολυκύτταρους οργανισμούς επειδή (επιλέξτε τη σωστή απάντηση και αιτιολογήστε):

- α. τα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι πολύ μικρότερα
- β. σε ένα πολυκύτταρο οργανισμό τα διάφορα κύτταρα εξειδικεύονται σε διαφορετικές λειτουργίες.
- γ. το περιβάλλον γύρω από ένα πολυκύτταρο οργανισμό αλλάζει συνεχώς.
- δ. οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί έχουν λιγότερα γονίδια, γι' αυτό κάθε γονίδιο πρέπει να έχει περισσότερες από μια λειτουργίες.
- ε. τα γονίδια των ευκαρυωτικών οργανισμών κωδικοποιούν πρωτεΐνες.

7. Τα κύτταρα του ήπατος, του δέρματος και τα μυϊκά κύτταρα είναι διαφορετικά επειδή:

- α. υπάρχουν διαφορετικά είδη γονιδίων στα κύτταρα
- β. βρίσκονται σε διαφορετικά όργανα
- γ. διαφορετικά γονίδια λειτουργούν σε κάθε είδος κυττάρου
- δ. περιέχουν διαφορετικούς αριθμούς γονιδίων
- ε. διαφορετικές μεταλλάξεις έχουν συμβεί σε κάθε είδος κυττάρου.

### Βιο... περίπατοι στο Διαδίκτυο (Internet)

Όνομα ιστοσελίδας	Περιγραφή	Διεύθυνση στο Internet
1. DNA & Protein Synthesis	Μια αλληλουχία έγχρωμων φωτογραφιών, από τον κόμβο του Πανεπιστημίου του Illinois, σας παρουσιάζει την ροή της γενετικής πληροφορίας (DNA -> RNA -> ΠΡΩΤΕΪΝΗ).	<a href="http://www.life.uiuc.edu/bio100/lessons/dna_and_protein_synthesis.html">http://www.life.uiuc.edu/bio100/lessons/dna_and_protein_synthesis.html</a>
2. DNA and Molecular Genetics	Πλούσιο φωτογραφικό υλικό και στοιχεία σχετικά με τη δομή και την αντιγραφή του DNA	<a href="http://gened.emc.maricopa.edu/bio/BIO181/BIOBK/BioBookDNAMOLGEN.html">http://gened.emc.maricopa.edu/bio/BIO181/BIOBK/BioBookDNAMOLGEN.html</a>
3. Η μετάφραση του mRNA σε πρωτεΐνη	Κινούμενα σχέδια	<a href="http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/5451/transgif.htm">http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/5451/transgif.htm</a>
4. DNA and Proteins	Για όσους ενδιαφέρονται για πειράματα σχετικά με την ύλη που παρουσιάστηκε σ' αυτό το κεφάλαιο του βιβλίου σας.	<a href="http://raven.umnh.utah.edu/secondlevel/core/dnaprotsmenu.html">http://raven.umnh.utah.edu/secondlevel/core/dnaprotsmenu.html</a>
5.		
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		

(Προσθέστε επιπλέον διευθύνσεις σχετικές με το θέμα από τις δικές σας εξερευνησεις του κυβερνοχώρου)



# Τεχνολογία του ανασυνδυσασμένου DNA



Κατασκευή ανασυνδυσασμένου DNA.

κεφάλαιο

4



## 4. Τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA

Από το 1953 που οι Watson και Crick πρότειναν το μοντέλο της τρισδιάστατης δομής του DNA μέχρι σήμερα η πρόοδος της επιστήμης της Βιολογίας ήταν αλματώδης. Η απομόνωση και χρήση πολυάριθμων ενζύμων, έδωσε στους ερευνητές τη δυνατότητα “αναπαραγωγής” των διαδικασιών της αντιγραφής, αντίστροφης μεταγραφής, μεταγραφής και μετάφρασης *in vitro*. Ειδικότερα η απομόνωση των περιοριστικών ενδονουκλεασών, ενζύμων που κόβουν το DNA σε κομμάτια με συγκεκριμένη αλληλουχία βάσεων, καθώς και ειδικών φορέων που μεταφέρουν DNA από κύτταρο σε κύτταρο, επέτρεψε την ανάπτυξη της **τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA** και έδωσε στον άνθρωπο την ικανότητα όχι μόνο να ερευνά, αλλά να επεμβαίνει και να τροποποιεί το γενετικό υλικό των οργανισμών. Η τεχνολογία αυτή βρίσκει εφαρμογή στην παραγωγή σειράς προϊόντων και τη δημιουργία φυτών και ζώων με “βελτιωμένες” ιδιότητες, όπως θα παρουσιαστεί σε επόμενα κεφάλαια. Με την ανάπτυξη της υψηλής αυτής τεχνολογίας, το γενετικό υλικό, το DNA, που ήταν τόσο δύσκολο να μελετηθεί, έγινε “παιχνίδι” στα ανθρώπινα χέρια.

Σήμερα μπορούμε να κατασκευάζουμε στο δοκιμαστικό σωλήνα ένα “ανασυνδυασμένο” μόριο DNA, δηλαδή ένα τεχνητό μόριο DNA, που περιέχει γονίδια από δύο ή και περισσότερους οργανισμούς. Το DNA αυτό μπορεί να μπει σε ένα βακτήριο ή σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο. Τα γενετικά τροποποιημένα βακτήρια ή ευκαρυωτικά κύτταρα είναι ικανά να ζουν και να αναπαράγονται κληρονομώντας στους απογόνους τους τις καινούργιες ιδιότητες.

Οι τεχνικές με τις οποίες ο άνθρωπος επεμβαίνει στο γενετικό υλικό, αποτελούν την **Γενετική Μηχανική**. Η Γενετική Μηχανική άνοιξε τον δρόμο για νέες, εξαιρετικά ενδιαφέρουσες ερευνητικές και παραγωγικές δυνατότητες, αλλά και για την επίτευξη δύο θεμελιωδών στόχων του ανθρώπου:

α. την κατανόηση των μυστηρίων της ζωής και της εξέλιξης πάνω στη γη και,

β. τη βελτίωση της υγείας και των τρόπου διαβίωσης του. Η βελτίωση αυτή επιτυγχάνεται με τις εφαρμογές της Γενετικής Μηχανικής τόσο στην Ιατρική όσο και στην Γεωργία και την Κτηνοτροφία.

Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA περιλαμβάνει όλες τις τεχνικές που οδηγούν σε μεταφορά του γενετικού υλικού από τον ένα οργανισμό στον άλλο. Τα στάδια της διαδικασίας αυτής είναι (Εικόνα 4.1):

- **Η κατασκευή του ανασυνδυασμένου DNA.** Για το σκοπό αυτό το DNA από έναν οργανισμό δότη απομονώνεται, κόβεται ενζυματικά με ειδικά ένζυμα, τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες, και ενώνεται με ένα φορέα κλωνοποίησης. Ο **φορέας κλωνοποίησης**, είναι ένα μόριο DNA,

όπως πλασμίδιο, DNA φάγων, το οποίο μπορεί να αυτοδιπλασιάζεται ανεξάρτητα μέσα σε ένα κύτταρο-ξενιστή όπως ένα βακτήριο. Το DNA που δημιουργείται ονομάζεται **ανασυνδυασμένο DNA**.

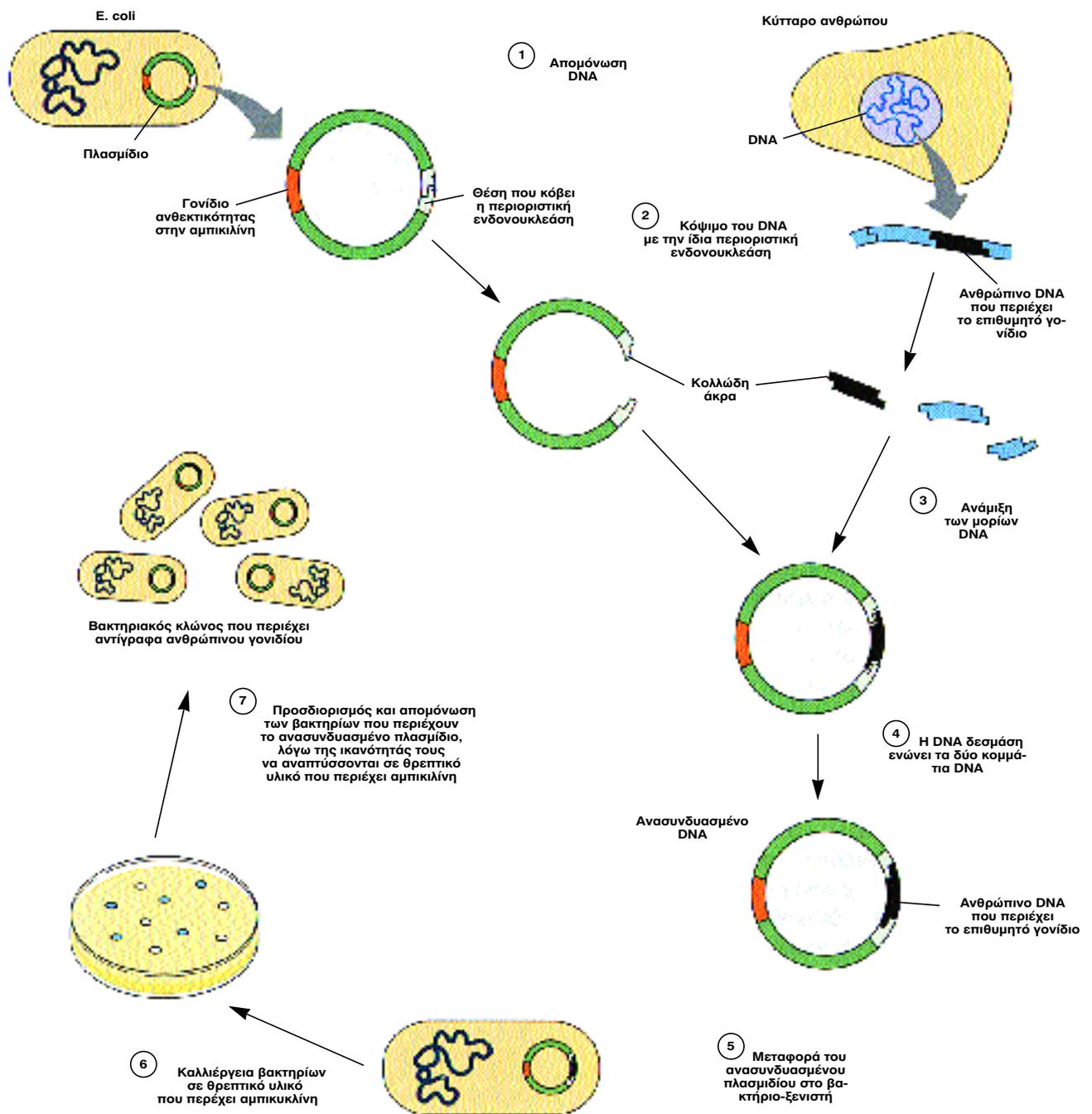
- **Η μεταφορά του ανασυνδυασμένου μόριου DNA σε ένα κύτταρο-ξενιστή.** Η εισαγωγή του DNA σε βακτηριακό κύτταρο-ξενιστή ονομάζεται **μετασχηματισμός**.
- **Η επιλογή και απομόνωση των κυττάρων ξενιστών.** Στο στάδιο αυτό τα κύτταρα ξενιστές που έχουν προσλάβει το ανασυνδυασμένο DNA απομονώνονται από εκείνα που δεν το έχουν προσλάβει. Για παράδειγμα, κάθε βακτήριο προσλαμβάνει ένα μόνο μόριο DNA, και η αποικία που παράγεται μετά τον πολλαπλασιασμό του, είναι ένας βακτηριακός κλώνος. Είναι φανερό ότι με την παραπάνω διαδικασία παράγονται χιλιάδες κλώνοι, που ο καθένας περιέχει ένα ανασυνδυασμένο μόριο DNA.
- **Η επιλογή ενός βακτηριακού κλώνου που περιέχει το επιθυμητό τμήμα DNA.** Αυτή πραγματοποιείται με τη βοήθεια ειδικών μορίων ανιχνευτών, όπως θα αναλυθεί στη συνέχεια.

Ο όρος κλώνος αναφέρεται σε μια ομάδα πανομοιότυπων μορίων, κυττάρων, ή οργανισμών. Ο όρος κλωνοποίηση αναφέρεται στην κατασκευή, κατά προτίμηση μεγάλου αριθμού, πανομοιότυπων μορίων, κυττάρων ή οργανισμών

### Μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη περιέχει όλο το γονιδίωμα ενός οργανισμού

Η ανακάλυψη των περιοριστικών ενδονουκλεασών έθεσε το θεμέλιο για τη δημιουργία των γονιδιωματικών βιβλιοθηκών. Οι **περιοριστικές ενδονουκλεάσες** παράγονται από βακτήρια και ο φυσιολογικός τους ρόλος είναι να τα προστατεύουν από την εισβολή “ξένου” DNA. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες αναγνωρίζουν ειδικές αλληλουχίες δίκλωνου DNA, μήκους 4-8 νουκλεοτιδίων. Μία από τις περιοριστικές ενδοκλεάσες που χρησιμοποιείται ευρέως είναι η **EcoRI** που απομονώθηκε από το βακτήριο *Escherichia coli* (Εικόνα 4.2). Το ένζυμο αυτό όποτε συναντά την αλληλουχία: -GATTC-

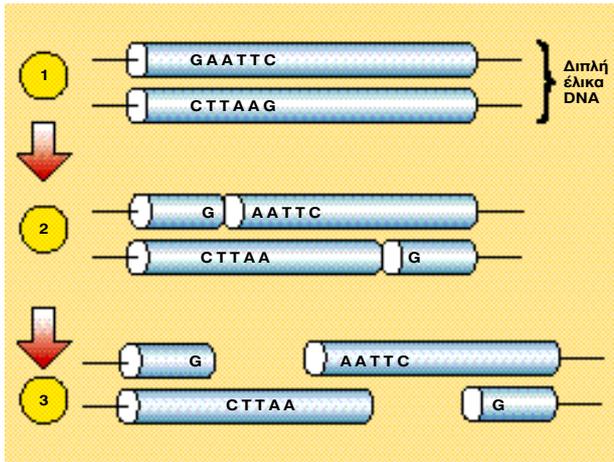
-CTAAG- στο γονιδίωμα, κόβει κάθε αλυσίδα μεταξύ του G και του A αφήνοντας μονόκλωνες ουρές από αζευγάρωτες βάσεις στα κομμένα άκρα. Τα άκρα αυτά μπορούν να σχηματίσουν υδρογονικούς δεσμούς με τις συμπληρωματικές βάσεις άλλων κομματιών DNA που έχουν κοπεί με το ίδιο ένζυμο. Η αλληλουχία GAATTC u-



Εικόνα 4.1. Στάδια παραγωγής ανασυνδυσασμένου μορίου DNA και κλωνοποίησής του.

πάρχει διάσπαρτη στα γονιδιώματα των οργανισμών. Έτσι το γονιδίωμα ενός ανώτερου ευκαρυωτικού οργανισμού μπορεί να κοπεί σε χιλιάδες κομμάτια με την περιοριστική αυτή ενδονουκλεάση. Στη συνέχεια τα κομμάτια αυτά ενσωματώνονται σε ειδικούς φορείς. Οι πιο χαρακτηριστικοί τύποι φορέων είναι τα πλασμίδια, και οι βακτηριοφάγοι. Τα πλασμίδια που χρησιμοποιούνται ως φορείς κλωνοποίησης έχουν την συγκεκριμένη αλληλουχία μια μόνο φορά. Έτσι

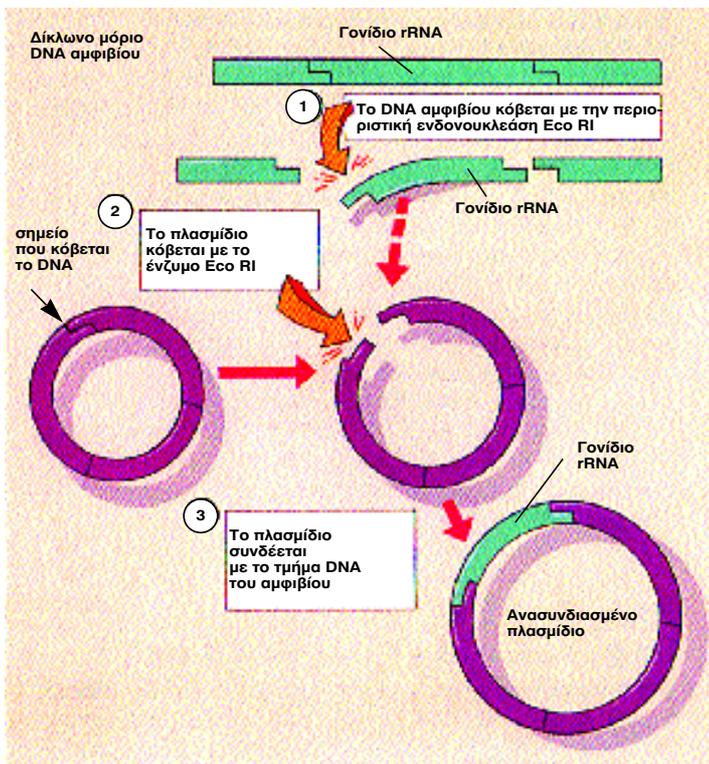
τα πλασμίδια κόβονται από την EcoRI σε αυτή τη θέση. Τα δύο είδη DNA, του πλασμιδίου και του οργανισμού αναμιγνύονται, και επειδή έχουν συμπληρωματικά άκρα, ενώνονται μεταξύ τους με τη μεσολάβηση ενός ενζύμου, της DNA δεσμάσης. Όπως θυμάστε η DNA δεσμάση φυσιολογικά είναι ένα από τα ένζυμα της αντιγραφής που συνδέει κομμάτια του DNA. Έτσι δημιουργούνται ανασυνδυσασμένα πλασμίδια (Εικόνα 4.3).



Εικόνα 4.2 Η περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI αναγνωρίζει την αλληλουχία GAATTC στη δίκλωνη αλυσίδα του DNA και την κόβει.

Τα ανασυνδυασμένα πλασμίδια εισάγονται σε βακτήρια-ξενιστές. Συνήθως χρησιμοποιούνται ως ξενιστές, βακτήρια που δεν έχουν πλασμίδια και επομένως είναι ευαίσθητα σε αντιβιοτικά (βλ. σελ. 18). Για να μπει ένα πλασμίδιο μέσα στο βακτήριο, τα τοιχώματα του βακτηρίου γίνονται παροδικά διαπερατά σε μακρομόρια, μετά από

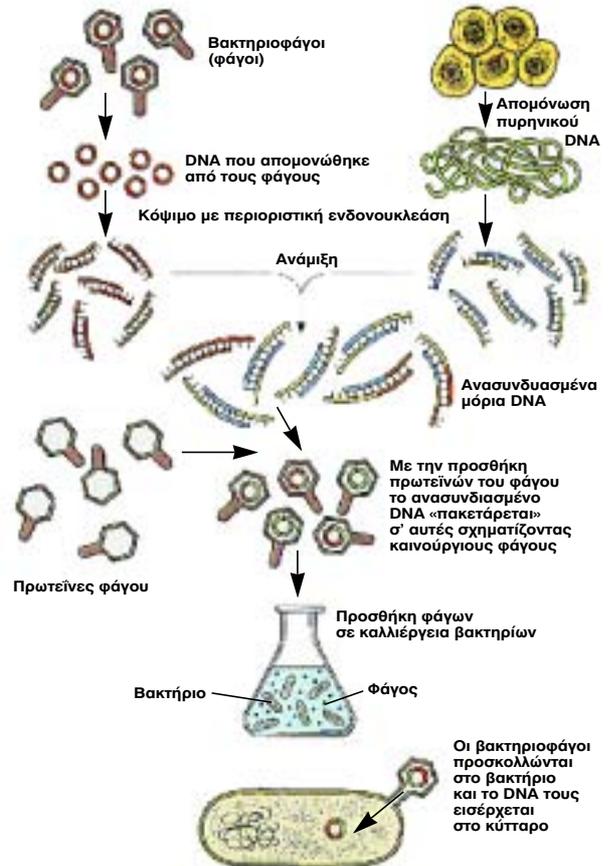
Εικόνα 4.3. Κατασκευή ανασυνδυασμένου μορίου DNA 1. Το DNA ενός οργανισμού κόβεται με μια περιοριστική ενδονουκλεάση 2. Το πλασμίδιο-φορέας κόβεται με το ίδιο ένζυμο 3. Τα δύο είδη DNA συνδέονται μεταξύ τους



κατάλληλη κατεργασία. Η διαδικασία εισαγωγής των ανασυνδυασμένων πλασμιδίων στα βακτήρια ονομάζεται μετασχηματισμός. Μικρό ποσοστό από τα βακτήρια δέχεται τα ανασυνδυασμένα πλασμίδια. Η επιλογή των βακτηρίων αυτών στηρίζεται στην ικανότητα ανάπτυξης τους παρουσία αντιβιοτικού, επειδή το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο περιέχει ένα γονίδιο που τους προσδίδει ανθεκτικότητα στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό. Κάθε βακτήριο περιέχει αντίγραφα ενός μόνο ανασυνδυασμένου πλασμιδίου και δίνει ένα κλώνο. Η διαδικασία δημιουργίας κλώνων βακτηρίων ονομάζεται **κλωνοποίηση**. Το σύνολο των βακτηριακών κλώνων περιέχει το συνολικό DNA του οργανισμού δότη και αποτελεί μια **γονιδιωματική βιβλιοθήκη** (Εικόνα 4.4). Για να γίνει επιλογή ενός κλώνου που έχει ένα επιθυμητό γονίδιο χρησιμοποιούνται ειδικοί **ανιχνευτές**, με μια διαδικασία που θα αναλυθεί παρακάτω.

Η κλωνοποίηση σε πλασμίδια είναι σχετικά απλή και γι' αυτό τα πλασμίδια αποτελούν το συνηθέστερο φορέα κλωνοποίησης για οργανισμούς με μικρό γονιδίωμα. Ενας άλλος φορέας που χρησιμοποιείται ευρύτατα γιατί μπορεί να ενσωματώσει μεγαλύτερα κομμάτια ξένου DNA, είναι ο

Εικόνα 4.4 Κατασκευή γονιδιωματικής βιβλιοθήκης

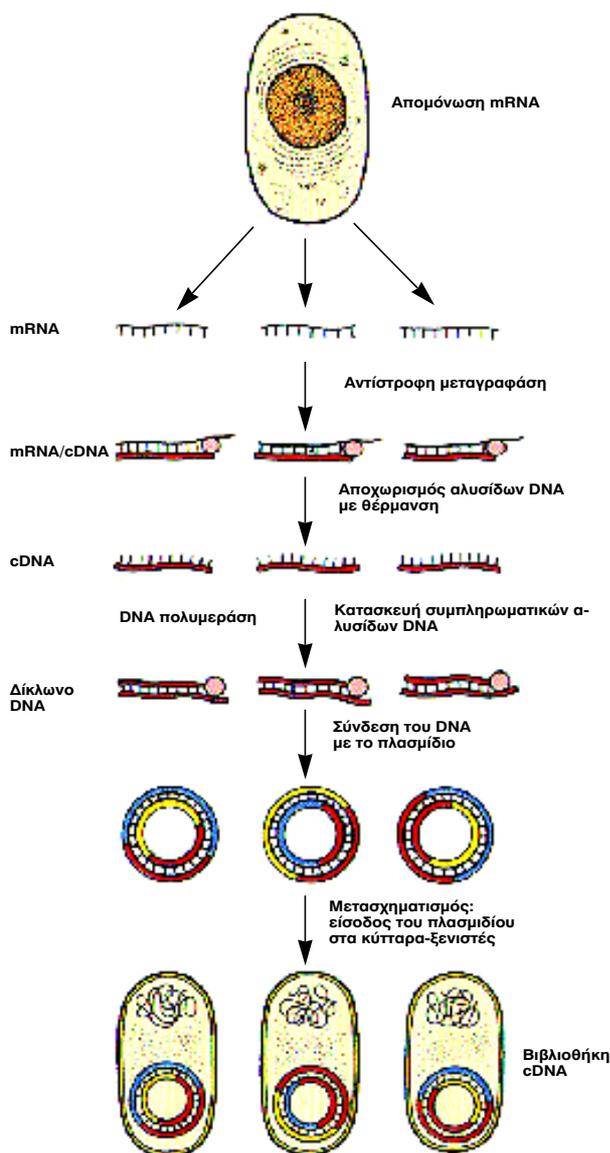


βακτηριοφάγος λ. Η στρατηγική της κλωνοποίησης είναι η ίδια με αυτήν που χρησιμοποιείται και στα πλασμίδια (Εικόνα 4.3).

### Κλωνοποίηση του mRNA: Κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης

Στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς πολλά γονίδια μεταγράφονται σε ορισμένους μόνο κυτταρικούς τύπους όπως για παράδειγμα τα γονίδια των αλυσίδων των αιμοσφαιρινών που εκφράζονται μόνο στα πρόδρομα ερυθροκύτταρα του ανθρώπου. Αν θέλουμε να κλωνοποιήσουμε μόνο τα γονίδια που εκφράζονται σε συγκεκριμένα κύτταρα, τότε κατασκευάζουμε τις cDNA βιβλιοθήκες. Οι cDNA βι-

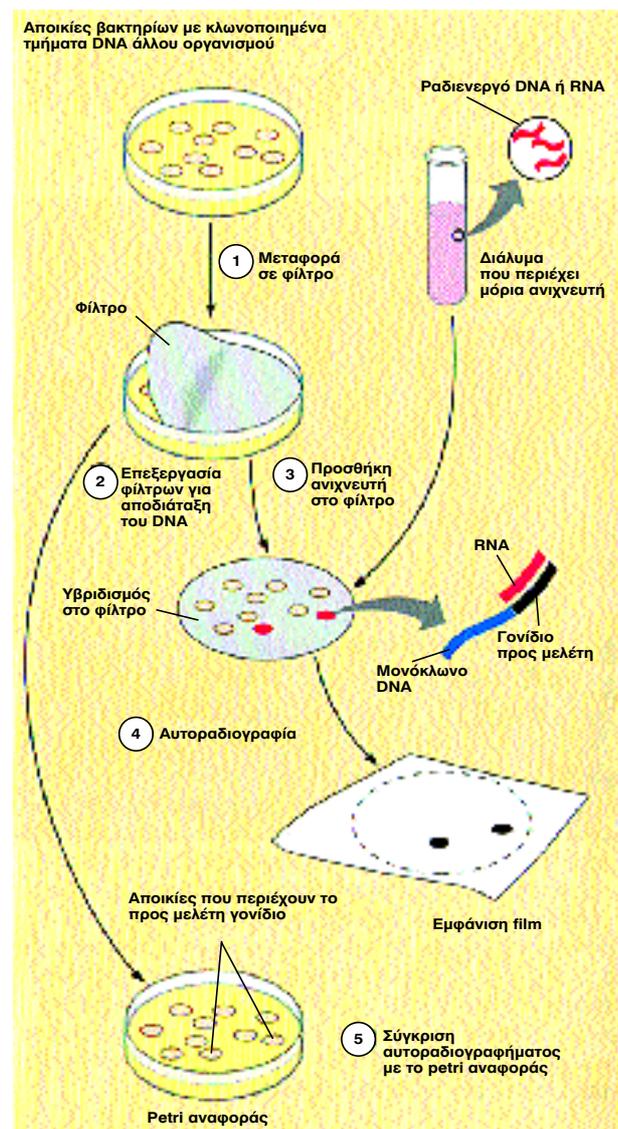
Εικόνα 4.5 Κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης



βλιοθήκες περιέχουν αντίγραφα των mRNA όλων των γονιδίων που εκφράζονται στα κύτταρα αυτά και έχουν το πλεονέκτημα απομόνωσης μόνο των αλληλουχιών των γονιδίων που μεταφράζονται σε αμινοξέα, δηλαδή των εξωνίων.

Για να κατασκευαστεί μία **cDNA βιβλιοθήκη**, απομονώνεται το ολικό mRNA από κύτταρα που εκφράζουν το συγκεκριμένο γονίδιο. Το mRNA χρησιμοποιείται σαν καλούπι για την σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλυσίδας DNA (cDNA: complementary DNA). Η σύνθεση του cDNA γίνεται από το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφή. Παράγονται έτσι υβριδικά μόρια cDNA-mRNA. Το mRNA διασπάται με κατάλληλες χημικές ουσίες ή αποδιατάσσεται με θέρμανση και τα cDNA χρησιμεύουν σαν καλούπι για την σύνθεση μια συμπληρωματικής αλυσίδας DNA. Το αποτέλεσμα είναι

Εικόνα 4.6 Ανίχνευση τμημάτων DNA ή γονιδίων με χρήση ραδιενεργών μορίων ανιχνευτών.



η δημιουργία δίκλωνων μορίων DNA. Τα δίκλινα μόρια DNA εισάγονται σε πλασμίδια ή βακτηριοφάγους και κλωνοποιούνται με την διαδικασία που αναφέρθηκε προηγουμένως. Με αυτό τον τρόπο δίνουν την δυνατότητα σύνθεσης της πρωτεΐνης ενός συγκεκριμένου γονιδίου στο κύτταρο ξενιστή. (Εικόνα 4.5).

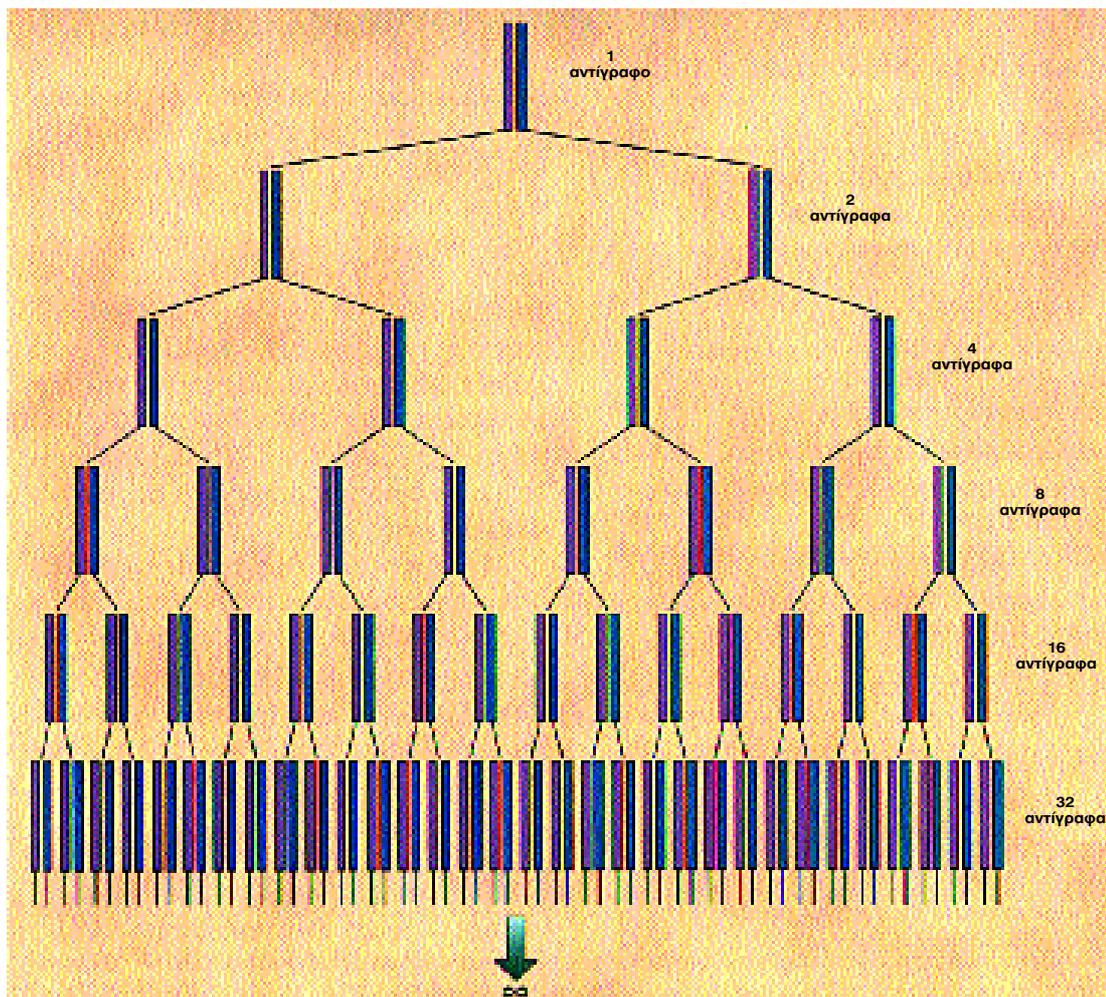
### Η υβριδοποίηση των νουκλεϊκών οξέων χρησιμοποιείται για την ανίχνευση κλώνων γονιδιωμικής ή cDNA βιβλιοθήκης

Η απομόνωση του συνολικού DNA από κύτταρα ενός προκαρυωτικού ή ευκαρυωτικού οργανισμού στο δοκιμαστικό σωλήνα είναι υπόθεση ρουτίνας. Αν επιδράσουμε στο DNA που απομονώθηκε με κατάλληλες χημικές ουσίες ή αυξήσουμε τη θερμοκρασία τότε σπάζουν οι υδρογονικοί δεσμοί μεταξύ των δύο συμπληρωματικών αλυσίδων και οι δύο αλυσίδες αποχωρίζονται η μια από την άλλη. Η διαδικασία αυτή λέγεται **αποδιάταξη**. Οι δύο μονό-

κλωνες συμπληρωματικές αλυσίδες σε κατάλληλες συνθήκες μπορούν να επανασυνδεθούν. Στην ιδιότητα αυτή στηρίζεται η διαδικασία της υβριδοποίησης που είναι η σύνδεση μονόκλωνων συμπληρωματικών αλυσίδων DNA ή συμπληρωματικών DNA-RNA. Η **υβριδοποίηση** είναι μια πολύ σημαντική ιδιότητα του DNA που μας δίνει τη δυνατότητα αν έχουμε ένα γνωστό μόριο DNA, να το χρησιμοποιήσουμε ως ανιχνευτή για τον εντοπισμό του συμπληρωματικού του όταν το τελευταίο βρίσκεται μαζί με χιλιάδες άλλα κομμάτια.

Μια γονιδιωμική βιβλιοθήκη περιέχει ένα τεράστιο αριθμό απο κλωνοποιημένα κομμάτια χρωμοσωμικού DNA, τα οποία έχουν παραχθεί με δράση κάποιας περιοριστικής ενδονουκλεάσης. Ορισμένα απο τα κομμάτια αυτά περιέχουν ολόκληρα γονίδια, άλλα περιέχουν κομμάτια γονιδίων και άλλα τμήματα DNA που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Ετσι πρέπει μέσα απο όλα αυτά τα κομμάτια να ε-

Εικόνα 4.7 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR).



νοπίσουμε αυτό που θέλουμε να μελετήσουμε. Η τεχνική που χρησιμοποιείται συνήθως περιλαμβάνει τη χρήση ιχνηθετημένων ανιχνευτών μορίων DNA ή RNA που περιέχουν αλληλουχίες συμπληρωματικές προς το κλωνοποιημένο DNA. Οι ανιχνευτές αναμειγνύονται με το DNA της βιβλιοθήκης (το οποίο έχει αποδιαταχθεί) και υβριδοποιούν μόνο το συμπληρωματικό τους DNA (Εικόνα 4.6).

Η διαδικασία της υβριδοποίησης ακολουθείται και για την απομόνωση ενός συγκεκριμένου γονιδίου από μια cDNA βιβλιοθήκη.

### Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) επιρρέπει τον επιλεκτικό πολλαπλασιασμό αλληλουχιών DNA

Η κατασκευή βιβλιοθηκών μας δίνει τη δυνατότητα να απομονώσουμε το βακτηριακό κλώνο που περιέχει το επιθυμητό γονίδιο. Στη συνέχεια πολλαπλασιάζονται τα βακτήρια του κλώνου και δημιουργούνται πολλά αντίγραφα του γονιδίου που περιέχει. Η δημιουργία πολλών αντιγράφων είναι απαραίτητη προϋπόθεση τόσο για τη μελέτη του συγκεκριμένου γονιδίου όσο και για την παραγωγή της πρωτεΐνης που αυτό κωδικοποιεί.

Η μέθοδος αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR: Polymerase Chain Reaction) μας επιτρέπει να αντιγράψουμε επιλεκτικά, εκατομμύρια φορές, ειδικές αλληλουχίες DNA από ένα σύνθετο μείγμα μορίων DNA, χωρίς τη μεσολάβηση ζωντανού κυττάρου (Εικόνα 4.7) δηλαδή χωρίς την επίπονη διαδικασία της κλωνοποίησης. Η τεχνική αυτή που άρχισε να εφαρμόζεται ευρέως από το 1985, έχει αυξήσει την ευαισθησία των γενετικών αναλύσεων και έχει πολλές πρακτικές εφαρμογές. Για παράδειγμα χρησιμοποιείται στην Ιατρική για την διάγνωση ασθενειών όπως του AIDS, στην εγκληματολογία για την διαλεύκανση υποθέσεων και στη μελέτη DNA από απολιθώματα.

### Ταξίδι στο χρόνο

- 1972** Δημιουργείται το πρώτο ανασυνδυασμένο μόριο DNA σε εργαστηριακές συνθήκες (in vitro).
- 1974** Επιτυγχάνεται η κλωνοποίηση ευκαρυωτικών γονιδίων σε βακτηριακά πλασμίδια.
- 1977** Επιτυγχάνεται η ανάπτυξη τεχνικών προσδιορισμού της αλληλουχίας βάσεων του DNA.
- 1981** Επιτυγχάνεται η παραγωγή διαγονιδιακών ποντικών και μυγών.
- 1982** Παράγεται ανθρώπινη ινσουλίνη με χρήση τεχνικών της Γενετικής Μηχανικής και παίρνει άδεια χρήσης του για διαβητικούς. “Απελευθερώνεται” στο φυσικό περιβάλλον το πρώτο γενετικά τροποποιημένο φυτό, ο καπνός.
- 1987** Αναπτύσσεται η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR - Polymerase Chain Reaction) που χρησιμοποιείται στον πολλαπλασιασμό συγκεκριμένων αλληλουχιών DNA.

### Αποτυπώματα DNA (DNA fingerprinting)

Μια επαναστατική μέθοδος που ονομάζεται μέθοδος αποτυπωμάτων DNA στηρίζεται στο γεγονός ότι δεν υπάρχουν άτομα, με εξαίρεση τους μονοζυγωτικούς διδύμους, που να έχουν το ίδιο ακριβώς DNA. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για την διαλεύκανση εγκλημάτων και την αναγνώριση της ταυτότητας ατόμων. Σύμφωνα με αυτή το DNA ενός ατόμου, πχ του υπόπτου, συγκρίνεται με το DNA που απομονώνεται από βιολογικό υλικό, όπως εκριζωμένες τρίχες, ή κηλίδα σπέρματος, το οποίο βρέθηκε στο χώρο του εγκλήματος. Τα αποτελέσματα της σύγκρισης του DNA μας δίνουν την δυνατότητα να συμπεράνουμε αν τα δύο δείγματα προέρχονται από το ίδιο άτομο ή όχι.

Πατέρας της μεθόδου αυτής είναι ο Άλεκ Τζέφρις, ο οποίος ανακάλυψε έναν τρόπο εντοπισμού ορισμένων περιοχών του DNA, που παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία στον ανθρώπινο πληθυσμό. Η πρώτη εφαρμογή της μεθόδου έγινε στη Μεγάλη Βρετανία. Στις 21 Νοεμβρίου 1985, η 15χρονη Λίντα Μαν βρέθηκε δολοφονημένη μετά από βιασμό σ' ένα ερημικό δρόμο στο Λεισεστερσάιρ. Στις 31 Ιουλίου 1986 σε γειτονικό χωριό βρέθηκε επίσης δολοφονημένη μετά από βιασμό η 15χρονη Ντον Ασογουορθ. Η τοπική Αστυνομία, αποφάσισε να υποβάλει σε ανάλυση DNA όλους τους άρρενες κατοίκους τριών χωριών της περιοχής, ηλικίας 13-30 χρονών. Πεντέμισι χιλιάδες άτομα πέρασαν από το τεστ προκειμένου να συγκριθεί το αίμα τους με το DNA του βιαστή που απομονώθηκε από τα ίχνη σπέρματος στα θύματά του. Στα τέλη Σεπτεμβρίου και ενώ οι αναλύσεις δεν είχαν ακόμη τελειώσει, ο 27χρονος Κόλιν Πίτσφορκ, διέφυγε από τη δειγματοληψία αίματος. Το γεγονός αυτό έγινε γνωστό και η Αστυνομία υπέβαλε σε υποχρεωτική εξέταση τον Κ. Πίτσφορκ και έστειλε δείγμα αίματός του για ανάλυση DNA. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το DNA του υπόπτου ήταν το ίδιο με το DNA που απομονώθηκε από τα θύματα. Ο δράστης παραπέμφθηκε στη δικαιοσύνη και του επιβλήθηκε ποινή κάθειρξης είκοσι ετών. Τα λόγια που είπε ο δικαστής ήταν ότι, χωρίς τα αποτελέσματα της ανάλυσης DNA ο δράστης ίσως να κυκλοφορούσε ακόμα ελεύθερος.

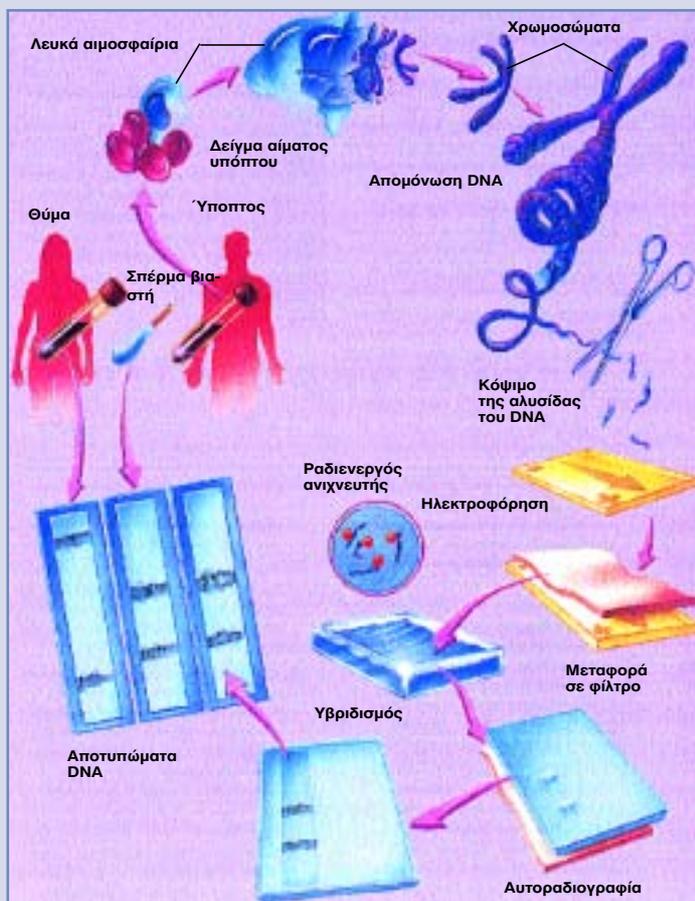
Η μέθοδος ανάλυσης αποτυπωμάτων DNA χρησιμοποιείται επίσης και για την εξακρίβωση ταυτότητας πτωμάτων σε περιπτώσεις που αυτά είναι παραμορφωμένα από σεισμούς, πυρκαγιές, αεροπορικά δυστυχήματα κτλ. Χρήση της μεθόδου αυτής γίνεται επίσης στις περιπτώσεις όπου αμφισβητείται η πατρότητα ενός παιδιού. Στην περίπτωση αυτή DNA που απομονώνεται από το αίμα του παιδιού, συγκρίνεται με το DNA από το αίμα

του υπό αμφισβήτηση πατέρα και με το DNA της μητέρας. Το γεγονός ότι το γενετικό αποτύπωμα του παιδιού είναι αποτέλεσμα συνδυασμού του γενετικού αποτυπώματος της μητέρας και αυτό του πατέρα, μας επιτρέπει την ταυτοποίηση του πατέρα.

Στην Ελλάδα η εξέταση του DNA γίνεται από το 1994 και ως σήμερα έχουν διερευνηθεί πάνω από 650 περιπτώσεις. Πολλές από αυτές αφορούν πολύκροτες υποθέσεις που έχουν δει τα φώτα της δημοσιότητας όπως αυτή της διπλής δολοφονίας του επιχειρηματία Γ. Νικολαΐδη και της φίλης του Σ. Καλαθάκη και την αναγνώριση της ταυτότητας των δύο θυμάτων που είχαν βρεθεί σε κατάσταση αποσύνθεσης στη θέση Κρόνιζα Λεονταρίου στη Βοιωτία. Τα δύο πτώματα, όπως διαπιστώθηκε, ήταν του δραπετή των φυλακών της Κέρκυρας Μ. Αδαμαντίδη και της φίλης του Α. Βλαχοστεργίου.

Τα στάδια που ακολουθεί η μέθοδος αποτυπωμάτων DNA, είναι τα εξής:

- Απομόνωση του DNA από τον ύποπτο και από το βιολογικό υλικό.
- Πολλαπλασιασμός πολυμορφικών περιοχών του μορίου DNA με τη μέθοδο PCR.
- Διαχωρισμός με ηλεκτροφόρηση των συγκεκριμένων περιοχών (βλ. ένθετο).
- Ανάλυση αποτελεσμάτων.



## Περίληψη

Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA έχει ως στόχο την απομόνωση και τον πολλαπλασιασμό ειδικών αλληλουχιών DNA μετά από ενσωμάτωση τους σε μόρια φορείς. Τα ανασυνδυασμένα μόρια που προκύπτουν διατηρούνται και πολλαπλασιάζονται σε βακτήρια *E. coli*.

Οι γονιδιωματικές βιβλιοθήκες κατασκευάζονται μετά από κόψιμο του ολικού DNA ενός οργανισμού με περιοριστικές ενδονουκλεάσες, ενσωμάτωση των κομματιών σε μόρια φορείς όπως πλασμίδια ή φάγους, και εισαγωγή τους μετά από μετασχηματισμό σε βακτήρια *E. coli*. Κάθε βακτήριο περιέχει ένα μόνο τμήμα DNA και δίνει γένεση σε ένα κλώνο. Η διαδικασία ονομάζεται κλωνοποίηση. Κάθε γονιδιωματική βιβλιοθήκη αποτελείται από χιλιάδες κλώνους που αντιπροσωπεύουν όλο το γονιδίωμα του οργανισμού. Ένα συγκεκριμένο τμήμα DNA η γονίδιο επιλέγεται με τη βοήθεια DNA ανιχνευτών.

Οι cDNA βιβλιοθήκες κατασκευάζονται από mRNA που απομονώνεται από διαφοροποιημένα ευκαρυωτικά κύτταρα. Αρχικά από το mRNA παράγεται δίκλωνο DNA, μέσω του ενζύμου αντίστροφη μεταγραφάση, το οποίο ενσωματώνεται σε μόρια φορείς και στη συνέχεια εισάγεται σε βακτήρια. Από τις cDNA βιβλιοθήκες μπορεί να επιλεγεί ένα γονίδιο που αποτελείται μόνο από τις περιοχές που κωδικοποιούν αμινοξέα. Το γονίδιο μετά από κάποιες τροποποιήσεις μπορεί να παράγει μια πρωτεΐνη σε μεγάλη ποσότητα.

Με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) ένα τμήμα DNA πολλαπλασιάζεται μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα απουσία κυττάρων.

## Ερωτήσεις

1. Γιατί οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες και οι φορείς είναι απαραίτητα εργαλεία για τη Γενετική Μηχανική;

2. Μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη είναι (επιλέξτε την σωστή απάντηση):

- α. ένας κλώνος βακτηρίων που περιέχει ένα τμήμα DNA ενός οργανισμού
- β. μια συλλογή βιβλίων για κλώνους
- γ. ένα σύνολο από κλώνους βακτηρίων που ο καθένας έχει ένα πλασμίδιο με διαφορετικό τμήμα DNA ενός οργανισμού
- δ. ένα σύνολο από περιοριστικές ενδονουκλεάσες που χρησιμοποιούνται για να παράγουν διαφορετικούς κλώνους
- ε. τίποτε από τα παραπάνω.

3. Θα μπορούσε να αναπτυχθεί η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA αν ο γενετικό κώδικας δεν ήταν καθολικός; Αιτιολογείστε την απάντησή σας.

4. Εξηγείστε με σχήματα το πώς παράγεται το cDNA και το πως χρησιμοποιείται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA ;

5. Συμπληρώστε με τις κατάλληλες λέξεις τα κενά στο κείμενο:

Το DNA κόβεται με ..... σε πολλά κομμάτια με γνωστά άκρα. Τα κομμάτια συνδέονται με ένα ..... που έχει συμπληρωματικά ά-

κρα, με τη βοήθεια ενός ενζύμου που λέγεται ..... Το cDNA μπορεί να κατασκευαστεί από το ..... με τη βοήθεια ενζύμου που ονομάζεται ..... και να συνδεθεί με ένα ..... Το ανασυνδυασμένο μόριο εισάγεται κατόπιν σε .....

6. Ποια κύτταρα θα χρησιμοποιούσατε για να κατασκευάσετε μία cDNA βιβλιοθήκη εάν θα θέλατε να απομονώσετε το γονίδιο για την:

- α. Ινσουλίνη
- β. Αιμοσφαιρίνη
- γ. Αντισώματα
- δ. Μυοσίνη

7. Για ποιο λόγο για την ενσωμάτωση DNA ευκαρυωτικού οργανισμού σε πλασμίδιο χρησιμοποιείται η ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση για να κόψει το πλασμίδιο και το DNA του οργανισμού;

8. Ποιός είναι ο ρόλος των παρακάτω στις τεχνικές Γενετικής Μηχανικής

- α. Περιοριστικές ενδονουκλεάσες
- β. Πλασμίδια
- γ. Βακτήρια

9. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες (επιλέξτε την σωστή απάντηση):

- α. παράγονται φυσιολογικά από ευκαρυωτικά κύτταρα
- β. κόβουν μονόκλωνα μόρια DNA
- γ. κόβουν το DNA σε πολύ εξειδικευμένες θέσεις
- δ. εισάγονται στα βακτήρια από τους βακτηριοφάγους

10. Ποια από τις παρακάτω προτάσεις που αφορούν την DNA δεσμάση είναι λάθος.

- είναι ένζυμο
- είναι φυσιολογικό συστατικό των κυττάρων
- μπορεί να ενώνει κομμάτια στο ανασυνδυασμένο DNA
- παίρνει μέρος στην αντιγραφή του DNA
- ενώνει πολυπεπίδια

11. Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)

- είναι μέθοδος εύρεσης της ακολουθίας βάσεων του DNA
- χρησιμοποιείται για να ανιχνεύει ένα ειδικό τμήμα DNA
- χρησιμοποιείται για να παράγει μεγάλες ποσότητες ενός ειδικού τμήματος DNA
- χρησιμοποιείται για να χαρτογραφήσει γονίδια

12. Σε πείραμα Γενετικής Μηχανικής χρησιμοποιείται πλασμίδιο το οποίο έχει δύο γονίδια ανθεκτικότητας σε

αντίστοιχα αντιβιοτικά: το ένα γονίδιο προσδίδει ανθεκτικότητα σε αμπικιλίνη και το άλλο σε στρεπτομυκίνη. Στο πλασμίδιο αυτό εισάγεται τμήμα DNA μέσα στο γονίδιο ανθεκτικότητας της αμπικιλίνης. Στη συνέχεια με το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο μετασχηματίζονται κύτταρα *Escherichia coli* που δεν είναι ανθεκτικά και στα δύο αντιβιοτικά. Αναλύστε τον τρόπο με τον οποίο μπορούν να επιλεγούν τα βακτήρια που περιέχουν το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.

### Εργασίες - Δραστηριότητες

Κάνετε ένα κατάλογο των φαινομένων και τεχνικών που συζητούνται στο κεφάλαιο αυτό και εξαρτώνται από τη συμπληρωματικότητα των βάσεων.

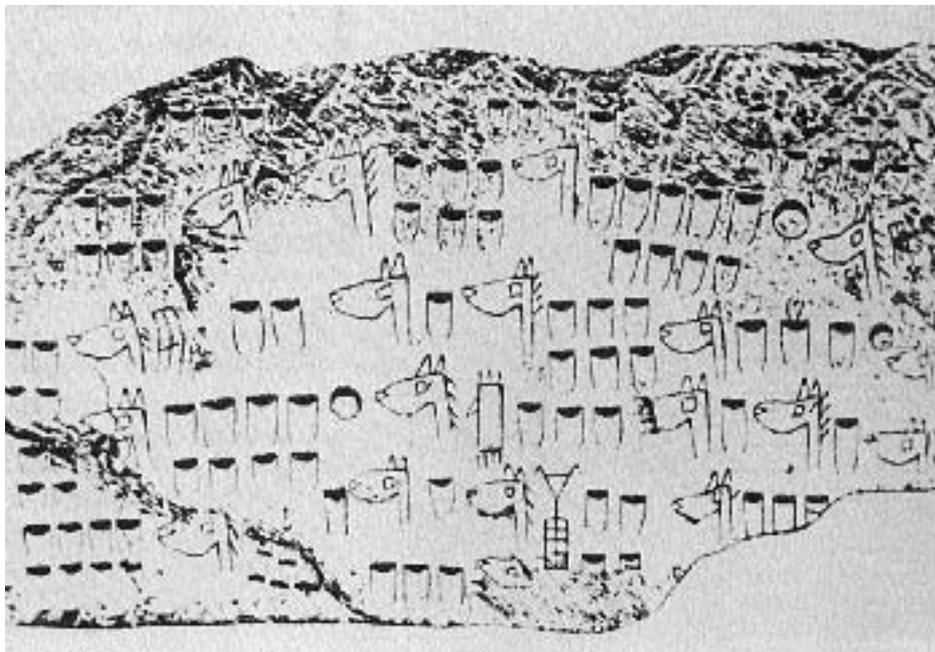
### Βιο... περίπατοι στο Διαδίκτυο (Internet)

Όνομα ιστοσελίδας	Περιγραφή	Διεύθυνση στο Internet
1. What is genetic engineering?	Η Αυστραλιανή Ένωση Βιοτεχνολογίας παρουσιάζει μια συνοπτική εικόνα της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA.	<a href="http://www.aba.asn.au/leaf2.html">http://www.aba.asn.au/leaf2.html</a>
2. Genetic Engineering At Air Academy High School	Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA "εισβάλλει" στις σχολικές τάξεις...	<a href="http://www.kadets.d20.co.edu/~lundberg/ge.html">http://www.kadets.d20.co.edu/~lundberg/ge.html</a>
3. The Virtual Lab	Συμπληρώστε τα στοιχεία σας και απολαύστε μια ξενάγηση στα βιολογικά εργαστήρια με χρήση πολυμέσων	<a href="http://www.novo.dk/vl/index.htm">http://www.novo.dk/vl/index.htm</a>
4.		
5.		
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		

(Προσθέστε επιπλέον διευθύνσεις σχετικές με το θέμα από τις δικές σας εξερευνηήσεις του κυβερνοχώρου)



## Μενδεϊκή κληρονομικότητα



Τοιχογραφία με χαρακτηριστικά αλόγων (4.000 π.Χ.).

κεφάλαιο

5



## 5. Μενδελική κληρονομικότητα

Το ενδιαφέρον για την κληρονομικότητα είναι πολύ παλιό, σχεδόν όσο και η ύπαρξη του ανθρώπινου είδους. Υπάρχουν πολλές μαρτυρίες σχετικά με τον προβληματισμό που δημιουργήθηκε στους ανθρώπους για θέματα κληρονομικότητας, οι οποίες χρονολογούνται τουλάχιστον πριν από 6.000 χρόνια. Η πρώτη όμως επιστημονική μελέτη της κληρονομικότητας έγινε το 19ο αιώνα από τον Αυστριακό μοναχό Gregor Mendel, που δικαίως θεωρείται ο πατέρας της Γενετικής.

Ο Mendel διάλεξε για τα πειράματά του ένα φυτό, το μοσχομπίζελο, (*Pisum sativum*), το οποίο καλλιεργούσε στον κήπο του μοναστηριού όπου ζούσε, στο Brno, πόλη σήμερα της Τσεχίας. Η επιτυχία των πειραμάτων του Mendel στηρίχτηκε στα παρακάτω:

- Μελέτησε μία ή δύο ξεχωριστές ιδιότητες του φυτού κάθε φορά και όχι το σύνολο των ιδιοτήτων που το χαρακτηρίζει. Διάλεξε, για παράδειγμα, το χρώμα των ανθέων ή το ύψος του φυτού και όχι όλα τα γνωρίσματα του.
- Χρησιμοποίησε για τα πειράματά του **αμιγή (καθαρά) στελέχη** για τη συγκεκριμένη ιδιότητα που μελετούσε, δηλαδή στελέχη τα οποία μετά την αυτογονιμοποίηση θα παρουσίαζαν για πολλές γενιές την ίδια ιδιότητα (π.χ. ψηλό φυτό, ιώδες άνθος).
- Ανέλυσε τα αποτελέσματά του στατιστικά, δηλαδή μετρούσε τους απογόνους των ατόμων τα οποία είχαν μια συγκεκριμένη ιδιότητα και στη συνέχεια υπολόγιζε τις συχνότητες εμφάνισής τους.

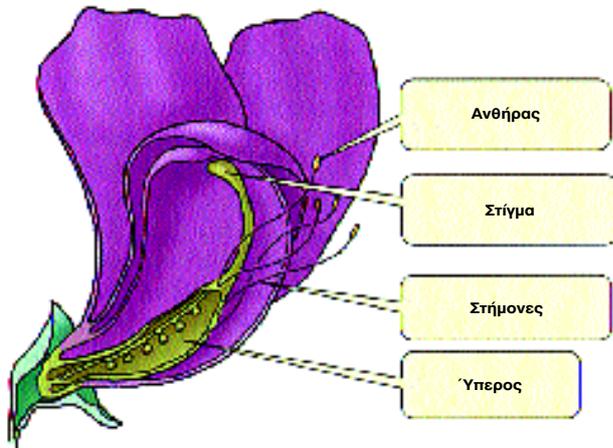
Άλλο σημαντικό στοιχείο που τον βοήθησε στην έρευνα του ήταν ότι επέλεξε με μεγάλη προσοχή το φυτό που χρησιμοποίησε. Το μοσχομπίζελο έχει πολλά πλεονεκτήματα. Αναπτύσσεται πολύ εύκολα και εμφανίζει μεγάλη ποικιλότητα σε πολλούς χαρακτήρες του όπως στο ύψος, όπου εμφανίζονται ψηλά και κοντά φυτά, στο χρώμα του άνθους, όπου υπάρχουν ιώδη και λευκά άνθη, στο χρώμα και στο σχήμα του σπέρματος καθώς και σε άλλες ιδιότητες (Εικόνα 5.1). Είναι απαραίτητο ο οργανισμός ο οποίος χρησιμοποιείται για τη μελέτη των μηχανισμών της κληρονομικότητας να εμφανίζει ποικιλότητα σε κάποιους χαρακτήρες. Δεν μπορούμε, για παράδειγμα, να μελετήσουμε την κληρονομικότητα του χρώματος των μαλλιών σε έναν πληθυσμό στον οποίο όλα τα άτομα έχουν ξανθά μαλλιά.

Το μοσχομπίζελο επίσης παρέχει τη δυνατότητα τεχνητής γονιμοποίησης, πέρα από την αυτογονιμοποίηση, η οποία συμβαίνει φυσιολογικά. Σ' αυτήν, η γύρη από τους στήμονες ενός άνθους πέφτει στον ύπερο του ίδιου άνθους, ενώ στην τεχνητή γονιμοποίηση η γύρη από τους

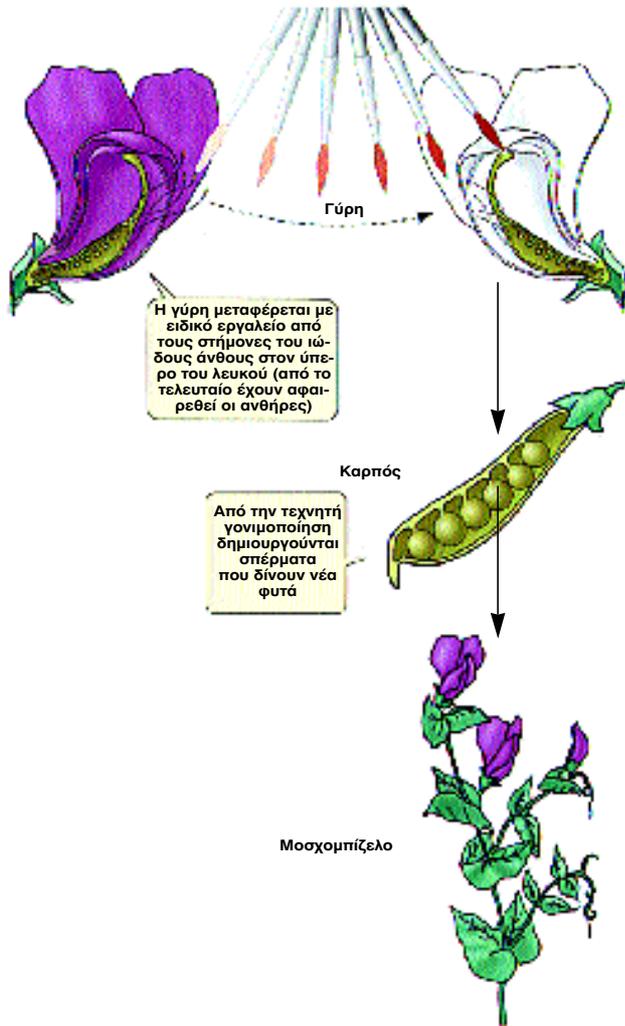
Χαρακτήρας	Επικρατής	Υπολειπόμενος
Σχήμα σπέρματος	 Λείο	 Ρυτιδωμένο
Χρώμα σπέρματος	 Κίτρινο	 Πράσινο
Χρώμα άνθους	 Ιώδες	 Λευκό
Σχήμα καρπού	 Κανονικό	 Περισφιγμένο
Χρώμα καρπού	 Κίτρινο	 Πράσινο
Θέση ανθέων	 Αξονικά	 Ακραία
Ύψος φυτού	 Ψηλό	 Κοντό

Εικόνα 5.1. Οι χαρακτήρες που μελέτησε ο Mendel στο φυτό *Pisum Sativum* (μοσχομπίζελο).

### α. Ανατομία άνθους



### β. Τεχνητή γονιμοποίηση



Εικόνα 5.2. α. Ανατομία του άνθους του μοσχομπίζελο  
β. Τεχνητή γονιμοποίηση στο μοσχομπίζελο

στήμονες ενός άνθους μπορεί να μεταφερθεί με ειδικό εργαλείο στον ύπερο του επιθυμητού άνθους (Εικόνα 5.2). Επιπλέον, το μοσχομπίζελο δίνει μεγάλο αριθμό απογόνων και παρέχει τη δυνατότητα στατιστικής επεξεργασίας των αποτελεσμάτων.

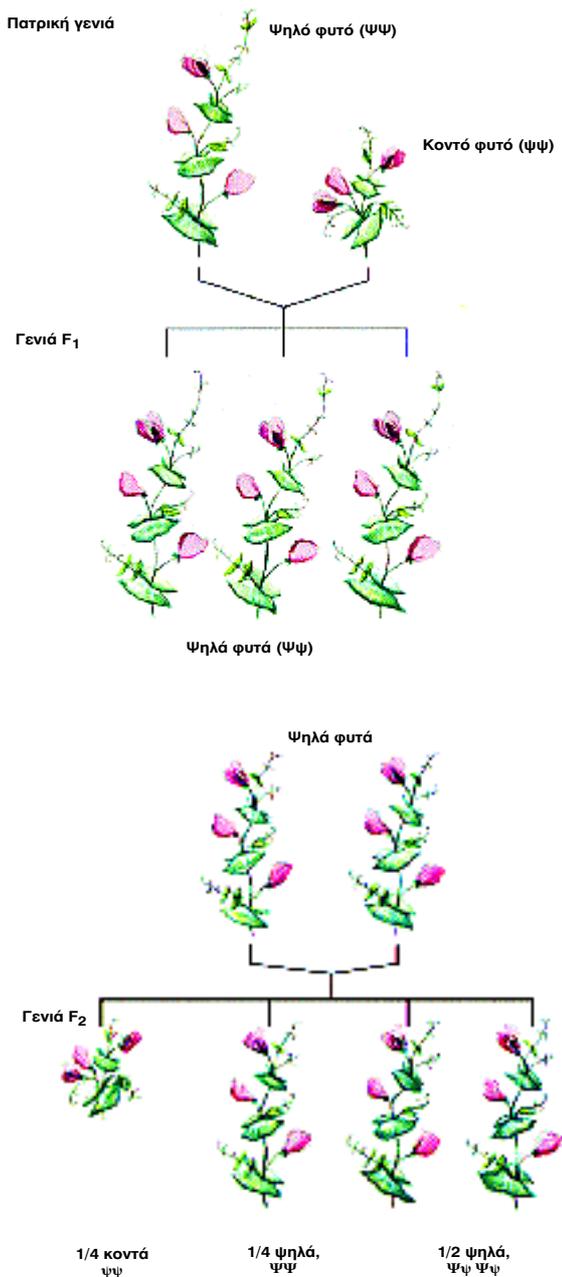
Αρχικά ο Mendel δημιούργησε αμιγή στελέχη για τη συγκεκριμένη ιδιότητα που μελετούσε. Αφού απέκτησε τέτοια στελέχη, στη συνέχεια έκανε τεχνητή γονιμοποίηση μεταξύ δύο αμιγών φυτών, που διέφεραν ως προς μία ιδιότητα. Τα φυτά αυτά αποτελούσαν την πατρική γενιά (P). Οι απόγονοί τους ήταν η πρώτη θυγατρική γενιά, που ήταν άτομα υβριδικά (γενιά  $F_1$ ), δηλαδή ήταν απόγονοι γονέων που είχαν διαφορετική έκφραση του ίδιου χαρακτήρα, όπως ψηλό και κοντό φυτό. Τα άτομα αυτά τα άφηγε να αυτογονιμοποιηθούν και έπαιρνε τους απογόνους τους, που αποτελούσαν τη δεύτερη θυγατρική γενιά (γενιά  $F_2$ ). Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων του ο Mendel διατύπωσε τους νόμους της κληρονομικότητας: το **νόμο του διαχωρισμού των αλληλόμορφων γονιδίων** και το **νόμο της ανεξάρτητης μεταβίβασης των γονιδίων**.

### Ο πρώτος νόμος περιγράφει τον τρόπο κληρονομής ενός γονιδίου - Νόμος διαχωρισμού των αλληλόμορφων γονιδίων

Ο Mendel διασταύρωσε αμιγή κοντά φυτά με αμιγή ψηλά φυτά. Διαπίστωσε ότι όλα τα φυτά της  $F_1$  ήταν ψηλά. Όταν τα φυτά της  $F_1$  διασταυρώθηκαν μεταξύ τους, προέκυψαν φυτά ψηλά και κοντά σε συγκεκριμένη και ίδια πάντα αναλογία. Επειδή ο κληρονομικός παράγοντας που καθορίζει το χαμηλό ύψος ξαναεμφανίζεται στην  $F_2$  γενιά, συμπέρανε ότι δε θα πρέπει να έχει “χαθεί” από την  $F_1$ . (Εικόνα 5.3).

Από αυτά τα αποτελέσματα ο Mendel πρότεινε ότι κάθε κληρονομικός χαρακτήρας, όπως το ύψος, ελέγχεται από δύο παράγοντες, που υπάρχουν σε κάθε άτομο. Σήμερα γνωρίζουμε ότι οι “κληρονομικοί παράγοντες” του Mendel είναι τα γονίδια, και ότι οι διαφορετικές μορφές του ίδιου χαρακτήρα ελέγχονται από αλληλόμορφα γονίδια. Συνεπώς, **αλληλόμορφα** είναι τα γονίδια που βρίσκονται στην ίδια θέση στα ομόλογα χρωμοσώματα και ελέγχουν την ίδια ιδιότητα, όπως χαμηλό ή ψηλό ύψος φυτού.

Ένα άτομο με ίδια αλληλόμορφα γονίδια για μια συγκεκριμένη ιδιότητα είναι **ομόζυγο** για την ιδιότητα αυτή, ενώ ένα άτομο με δύο διαφορετικά αλληλόμορφα γονίδια είναι **ετερόζυγο**. Ο Mendel παρατήρησε ότι σε μερικά γονίδια το αλληλόμορφο του ενός γονέα μπορεί να καλύπτει την έκφραση του αλληλόμορφου του άλλου. Αυτό που καλύπτει ονομάζεται **επικρατές** και αυτό που καλύπτεται **υπολειπόμενο**. Κατά τη διασταύρωση ψηλών με κοντά φυτά το αλληλόμορφο ψηλό είναι επικρατές στο κοντό. Το επικρατές συμβολίζεται με κεφαλαίο γράμμα και το υπολειπόμενο με μικρό. Συνή-



Εικόνα 5.3. Διασταύρωση μονούβριδισμού. Ο Mendel διασταύρωσε ψηλά και κοντά φυτά. α. Στην F<sub>1</sub> όλα τα φυτά ήταν ψηλά β. Διασταύρωση των φυτών της F<sub>1</sub> μεταξύ τους, έδωσε ψηλούς και κοντούς απογόνους.

θως χρησιμοποιείται το πρώτο γράμμα του επικρατούς χαρακτήρα. Εάν ένα άτομο έχει δύο επικρατή αλληλόμορφα, τότε είναι **ομόζυγο επικρατές**. Αυτό συμβολίζεται με δύο κεφαλαία γράμματα, όπως ΨΨ για τα ψηλά φυτά. Εάν και τα δύο αλληλόμορφα είναι υπολειπόμενα, το άτομο είναι **ομόζυγο υπολειπόμενο**. Αυτό συμβολίζεται με δυο μικρά γράμματα, όπως ψψ για τα κοντά φυτά. Μια άλλη περίπτωση είναι το άτομο να έχει ένα επικρατές και ένα υπολειπόμενο αλληλόμορφο, δηλαδή να είναι **ετερόζυγο**, όπως Ψψ, που αντι-

στοιχεί στα ψηλά φυτά της F<sub>1</sub> γενιάς. Η εμφάνιση ενός ατόμου δεν αποκαλύπτει πάντοτε τα αλληλόμορφα του. Τα ΨΨ και Ψψ φυτά είναι ψηλά, αλλά το πρώτο είναι ομόζυγο και το δεύτερο ετερόζυγο. Ο **γονότυπος** αναφέρεται στο σύνολο των αλληλόμορφων γονιδίων ενός οργανισμού, ενώ ο **φαινότυπος** αφορά το σύνολο των χαρακτήρων οι οποίοι αποτελούν την έκφραση του γονότυπου ενός οργανισμού, όπως είναι η εξωτερική εμφάνιση και η βιοχημική σύσταση.

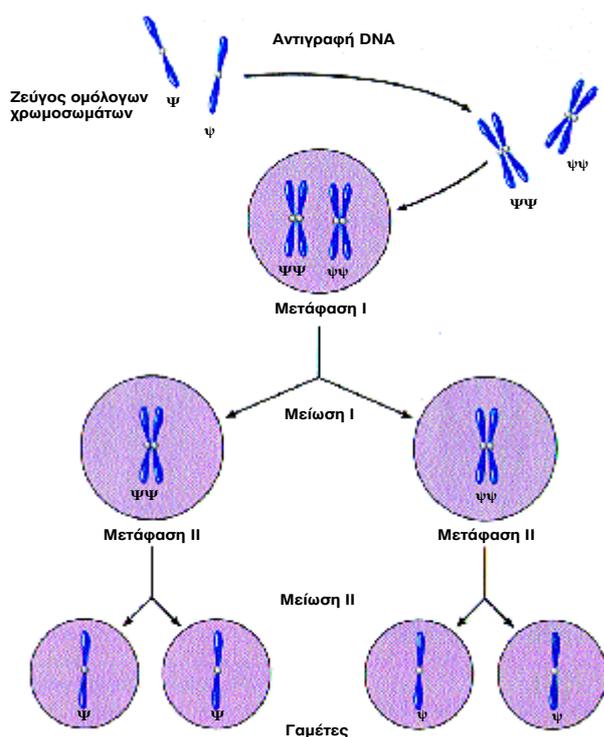
### Νόμοι του Mendel και μείωση

Ο τρόπος με τον οποίο κληρονομούνται οι χαρακτήρες τους οποίους μελέτησε ο Mendel είναι αποτέλεσμα των γεγονότων που συμβαίνουν στη μείωση. Όταν παράγεται ένας γαμέτης, διαχωρίζονται τα δύο ομόλογα χρωμοσώματα και συνεπώς και τα δύο αλληλόμορφα γονίδια (Εικόνα 5.4). Σε ένα φυτό γονότυπου Ψψ, για παράδειγμα, σχηματίζονται δύο ειδών γαμέτες, Ψ και ψ, σε ίση αναλογία. Οι απόγονοι προκύπτουν από τον τυχαίο συνδυασμό των γαμετών. Αυτή η κατανομή των αλληλόμορφων στους γαμέτες και ο τυχαίος συνδυασμός τους αποτελεί τον **πρώτο νόμο του Mendel ή νόμο του διαχωρισμού των αλληλόμορφων γονιδίων**.

Ο Mendel διασταύρωσε κοντά (ψψ) με ψηλά (ΨΨ) φυτά.

#### Πολλοί από τους κληρονομικούς χαρακτήρες ελέγχονται από περισσότερα από ένα ζεύγη γονιδίων

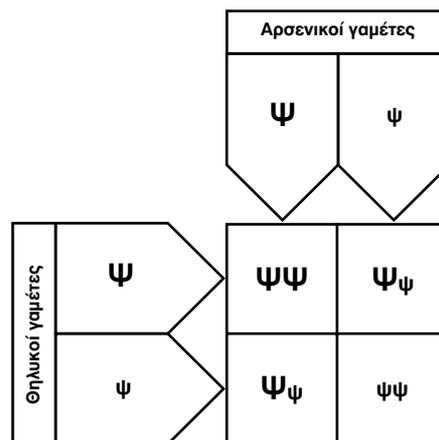
Ο Mendel μελέτησε γενετικούς χαρακτήρες που καθορίζονται από ένα ζευγάρι αλληλομόρφων γονιδίων. Πολλοί όμως χαρακτήρες του ανθρώπου, όπως το ύψος και το χρώμα του δέρματος εμφανίζουν μια συνεχή διακύμανση ανάμεσα στα διάφορα άτομα ενός πληθυσμού. Καθένας από αυτούς τους χαρακτήρες καθορίζεται από λίγα έως πολλά διαφορετικά γονίδια. Γι αυτές τις περιπτώσεις χρησιμοποιείται ο όρος πολυγονιδιακή κληρονομικότητα. Αφορά λοιπόν περιπτώσεις όπου ανεξάρτητα ζεύγη γονιδίων έχουν παρόμοια και προσθετικά αποτελέσματα πάνω στον ίδιο κληρονομικό χαρακτήρα. Σε πολλές περιπτώσεις στη δημιουργία του φαινότυπου επιδρά και το περιβάλλον. Η συνεχής έκθεση στον ήλιο μεταβάλλει το χρώμα του δέρματος όπως και η πτωχή διατροφή που μπορεί να επιδράσει αρνητικά στο ύψος. Στην εικόνα φαίνεται η προσθετική δράση διαφόρων γονιδίων στη δημιουργία του ύψους, το οποίο εμφανίζει συνεχή διακύμανση στα άτομα του πληθυσμού.



Εικόνα 5.4. Ο νόμος του διαχωρισμού των αλληλομόρφων γονιδίων. Κατά τη μείωση διαχωρίζονται τα ομόλογα χρωμοσώματα και τα γονίδια που βρίσκονται σ' αυτά και σχηματίζονται οι γαμέτες. Στη γονιμοποίηση γίνεται ελεύθερος συνδυασμός των αλληλομόρφων γονιδίων.

Τα φυτά της  $F_1$  είχαν όλα τον ίδιο φαινότυπο, ψηλό με γονότυπο  $\Psi\psi$  (ετερόζυγα). Βγαίνει λοιπόν το συμπέρασμα, ότι όλα τα άτομα της  $F_1$  γενιάς είναι φαινοτυπικά όμοια. Στη συνέχεια διασταύρωσε τα φυτά της  $F_1$  μεταξύ τους. Από τη διασταύρωση προκύπτουν άτομα  $\Psi\Psi$ ,  $\Psi\psi$  και  $\psi\psi$ . Ένα άτομο  $\Psi\Psi$  προκύπτει, όταν ένας γαμέτης που περιέχει το αλληλόμορφο  $\Psi$  γονιμοποιήσει ένα γαμέτη που περιέχει επίσης το αλληλόμορφο  $\Psi$ . Ένα  $\psi\psi$  φυτό προκύπτει, όταν ένας  $\psi$  γαμέτης γονιμοποιήσει έναν  $\psi$  γαμέτη, και ένα  $\Psi\psi$  άτομο προκύπτει από συνδυασμό ενός  $\Psi$  με έναν  $\psi$  γαμέτη. Επειδή οι δύο από τους τέσσερις δυνατούς συνδυασμούς γαμετών παράγουν ένα ετερόζυγο άτομο, ενώ οι υπόλοιποι συνδυασμοί δίνουν ομόζυγο, η γονοτυπική αναλογία από μια διασταύρωση μονοϋβριδισμού δύο ατόμων της  $F_1$  είναι  $1\Psi\Psi : 2\Psi\psi : 1\psi\psi$ . Η αντίστοιχη φαινοτυπική αναλογία είναι 3 ψηλά προς 1 κοντό φυτό, δηλαδή 3:1. Αυτές οι αναλογίες υπολογίζονται εύκολα με τη δημιουργία του **τετράγωνου του Punnett** (Εικόνα 5.5). Οι διασταυρώσεις αυτού του τύπου, όπου μελετάται ο τρόπος κληρονομής ενός χαρακτήρα, ονομάζονται **διασταυρώσεις μονοϋβριδισμού**.

Ο Mendel, προκειμένου να εξακριβώσει αν ένα ψηλό φυτό είχε γονότυπο  $\Psi\Psi$  (ομόζυγο) ή  $\Psi\psi$  (ετερόζυγο), πραγματοποίησε επιπλέον διασταυρώσεις. Διασταύρωσε



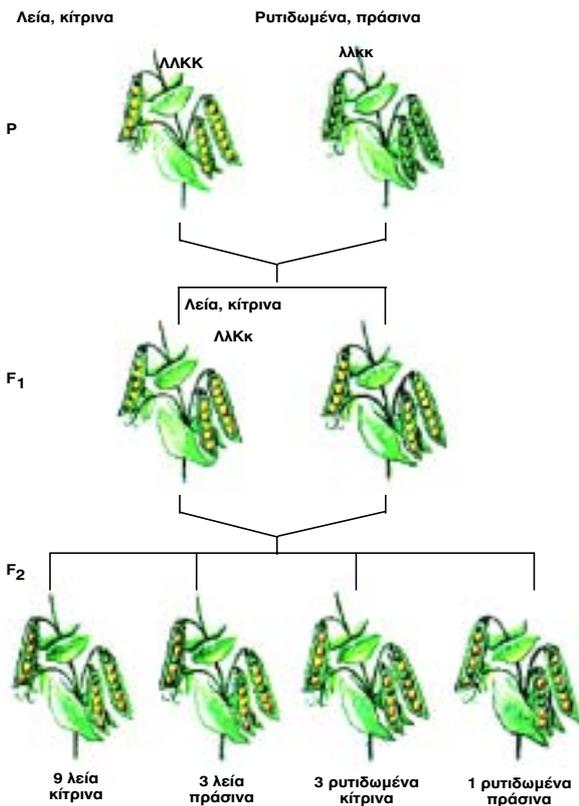
Εικόνα 5.5. Τετράγωνο του Punnett. Αποτελεί διάγραμμα των γαμετών και του τρόπου συνδυασμού τους σε μια διασταύρωση. Σε κάθε τμήμα του τετραγώνου βρίσκονται οι γονότυποι των ατόμων που προκύπτουν. Το συγκεκριμένο τετράγωνο του Punnett αναφέρεται σε μια διασταύρωση μονοϋβριδισμού μεταξύ δύο ψηλών φυτών με γονότυπο  $\Psi\psi$ .

ψηλά φυτά άγνωστου γονότυπου με κοντά ( $\psi\psi$ ) φυτά. Όταν ένα ψηλό φυτό που διασταυρωνόταν με ένα κοντό ( $\psi\psi$ ) φυτό έδινε ψηλούς και κοντούς απογόνους, τότε ο Mendel ήξερε ότι το φυτό ήταν  $\Psi\psi$  (ετερόζυγο), ενώ αν έδινε μόνο ψηλά φυτά, ήταν  $\Psi\Psi$  (ομόζυγο). Η διασταύρωση ενός ατόμου άγνωστου γονότυπου με ένα άτομο ομόζυγο για το υπολειπόμενο αλληλόμορφο γονίδιο ονομάζεται **διασταύρωση ελέγχου**. Το ομόζυγο υπολειπόμενο άτομο έχει πάντοτε ένα μόνο γονότυπο που καθορίζει και το φαινότυπο, δηλαδή ένα κοντό φυτό είναι πάντοτε  $\psi\psi$ .

### Ο δεύτερος νόμος του Mendel περιγράφει τον τρόπο κληρονομής δύο γονιδίων - Νόμος της ανεξάρτητης μεταβίβασης των γονιδίων

Σε μια δεύτερη σειρά πειραμάτων ο Mendel μελέτησε την κληρονομικότητα δύο διαφορετικών χαρακτήρων. Οι χαρακτήρες που επέλεξε ήταν το σχήμα και το χρώμα του σπέρματος. Το σχήμα του σπέρματος μπορεί να είναι λείο ή ρυτιδωμένο (καθορίζεται από τα αλληλόμορφα  $\Lambda, \lambda$ ) και το χρώμα είναι κίτρινο ή πράσινο (καθορίζεται από τα αλληλόμορφα  $K, k$ ). Όταν ο Mendel διασταύρωσε αμιγή φυτά με λεία και κίτρινα σπέρματα με φυτά που είχαν ρυτιδωμένα και πράσινα σπέρματα, όλοι οι απόγονοι είχαν λεία και κίτρινα σπέρματα. Εβγαλε συνεπώς το συμπέρασμα ότι το αλληλόμορφο που καθορίζει το λείο σχήμα σπέρματος είναι επικρατές έναντι του ρυτιδωμένου, και, αντίστοιχα, αυτό που καθορίζει το κίτρινο χρώμα είναι επικρατές του πράσινου.

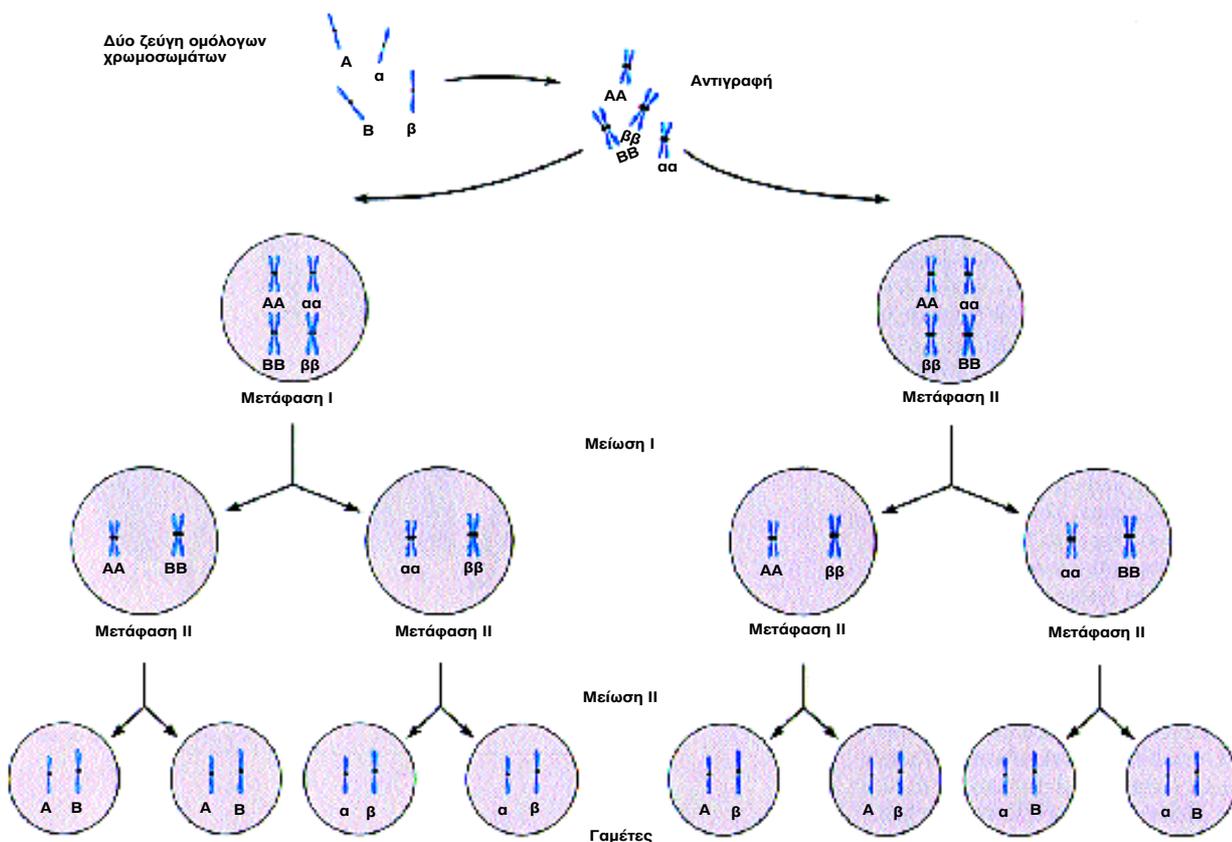
Στη συνέχεια, διασταύρωσε τα φυτά της  $F_1$  (γονότυπος  $\Lambda\lambda Kk$ ) μεταξύ τους. Ο Mendel παρατήρησε τέσσε-



Εικόνα 5.6. Δισταύρωση διυβριδισμού. Ο Mendel διασταύρωσε φυτά που έχουν λεία κίτρινα σπέρματα με φυτά που έχουν ρυτιδωμένα πράσινα σπέρματα. Τα φυτά της F<sub>1</sub> είχαν λεία κίτρινα σπέρματα. Δισταύρωση των φυτών της F<sub>1</sub> έδωσε απογόνους με λεία κίτρινα, λεία πράσινα, ρυτιδωμένα κίτρινα και ρυτιδωμένα πράσινα σε αναλογία 9:3:3:1.

ρις τύπους σπερμάτων στην F<sub>2</sub> γενιά: λεία και κίτρινα, λεία και πράσινα, ρυτιδωμένα και κίτρινα, καθώς και ρυτιδωμένα και πράσινα σε αναλογία **9:3:3:1** (Εικόνα 5.6). Βασιζόμενος σε αυτά τα αποτελέσματα ο Mendel πρότεινε το **δεύτερο νόμο της ανεξάρτητης μεταβίβασης των γονιδίων**, που αναφέρει ότι το γονίδιο που ελέγχει ένα χαρακτήρα δεν επηρεάζει τη μεταβίβαση του γονιδίου που ελέγχει έναν άλλο χαρακτήρα. Σήμερα είναι γνωστό ότι αυτό ισχύει μόνο για γονίδια που βρίσκονται σε διαφορετικά ζεύγη ομόλογων χρωμοσωμάτων. Ο ανεξάρτητος διαχωρισμός των γονιδίων γίνεται, επειδή τα χρωμοσώματα κάθε

Εικόνα 5.7. Ανεξάρτητη μεταβίβαση των γονιδίων που βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα, προκύπτει από την τυχαία διάταξη των ζευγών χρωμοσωμάτων κατά τη μετάφαση της μείωσης I. Ένα άτομο με γονότυπο ΑαΒβ για παράδειγμα δημιουργεί τέσσερις τύπους γαμετών τους ΑΒ, Αβ, αΒ, και αβ. Ο συνδυασμός των αλληλομόρφων εξαρτάται από ποια χρωμοσώματα βρίσκονται στον ίδιο γαμέτη που είναι τυχαίο γεγονός.



γονέα συνδυάζονται με τυχαίο τρόπο κατά τη δημιουργία των γαμετών (Εικόνα 5.7). Οι διασταυρώσεις αυτού του τύπου, που μελετάται ο τρόπος κληρονομής δύο χαρακτῆρων ονομάζονται **διασταυρώσεις διυβριδισμού**. Στις διασταυρώσεις αυτές κάθε γονέας παράγει ίσο αριθμό γαμετών τεσσάρων διαφορετικών τύπων: ΑΚ, Ακ, λΚ και λκ. Το τετράγωνο του Punnett γι'αυτή τη διασταύρωση προσδιορίζει τη φαινοτυπική αναλογία των δημιουργούμενων ατόμων, όπως ακριβώς τους προσδιόρισε ο Mendel (Εικόνα 5.8).

### Το ξεκίνημα μιας νέας επιστήμης

Το δέκατο ένατο αιώνα έγινε πολύ δημοφιλής η θεωρία σύμφωνα με την οποία η κληρονομικότητα ελέγχεται από μέρη του σώματος. Στα μέρη αυτά δόθηκαν διάφορα ονόματα, όπως πανγονίδια, ιδιοβλάστες, βιοβλάστες και πολλά άλλα. Ενας όμως ερευνητής που αντιμετώπισε με διαφορετικό τρόπο την έννοια της κληρονομικότητας δημιούργησε την επιστήμη της Γενετικής. Το όνομα του ήταν Gregor Mendel και η αξία της δουλειάς του αναγνωρίστηκε εικοσιπέντε χρόνια μετά το θάνατο του.

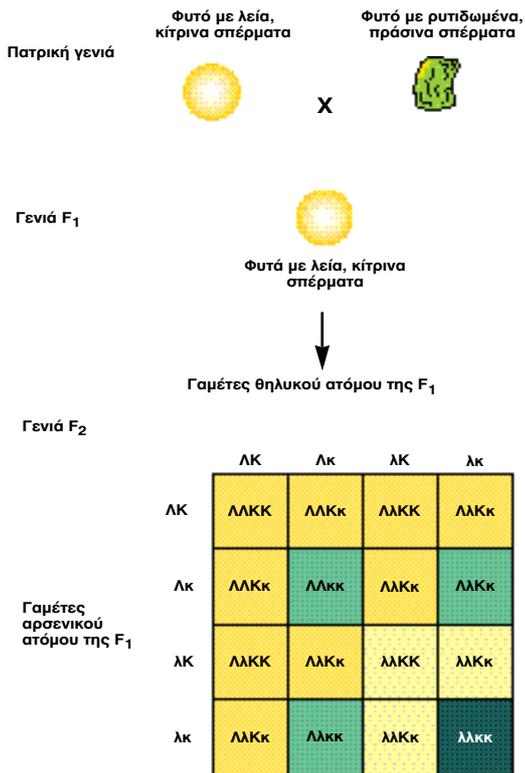
Όταν ήταν παιδί ο Mendel έμαθε να καλλιεργεί τη γη όπως και η οικογένειά του. Προσπάθησε να ξεφύγει από τη μεγάλη φτώχεια στην οποία ζούσε στο σημερινό τμήμα της Τσεχίας, στα σύνορα με τη Πολωνία, πηγαίνοντας να σπουδάσει στο Πανεπιστήμιο Φυσικές Επιστήμες, ενώ παράλληλα ήταν μοναχός στο Αυγουστινιανό μοναστήρι του Brno. Εκεί ασχολήθηκε με την καλλιέργεια των φυτών και δημιούργησε ένα θερμοκήπιο για πειραματική μελέτη. Η εργασία του πάνω στο μωσχόμπιζελο τον οδήγησε στην ανακάλυψη των μηχανισμών της κληρονομικότητας. Υστερα από εννέα χρόνια προσεκτικών διασταυρώσεων οδηγήθηκε στην ανάλυση της μεταβίβασης ξεχωριστών «παραγόντων» στους απογόνους, παρ' όλο που δεν ήξερε πώς περνούσε η πληροφορία με τη φυσική έννοια.

Το 1865 παρουσίασε τα αποτελέσματα των πειραμάτων του, τα οποία ό-

μως αγνοήθηκαν από την επιστημονική κοινότητα. Πολλοί λίγοι κατανόησαν ότι παρουσίαζε βασικές αρχές, που εφαρμόζονταν και πέρα από τα μπιζέλια. Ο Mendel έστειλε τα αποτελέσματά του στον Karl Wilhelm von Nageli, ένα σημαντικό Ελβετό βοτανικό, ο οποίος δεν τα θεώρησε σημαντικά. Απογοητευμένος ο Mendel ξαναδημοσίευσε νέα αποτελέσματα το 1869, τα οποία πάλι αγνοήθηκαν. Αποκαρδιωμένος εγκατέλειψε για πάντα τα πειράματά του και ασχολήθηκε πλέον με τη διοίκηση του μοναστηριού έως το θάνατο του. Το 1900 οι βοτανικοί Hugo de Vries στην Ολλανδία, ο Carl Correns στη Γερμανία και ο Erich von Tschermak στην Αυστρία διαβασαν τις δημοσιεύσεις του Mendel και κατάλαβαν την αξία τους, επειδή



και οι ίδιοι είχαν καταλήξει σε παρόμοια πειραματικά αποτελέσματα. Οι θεωρίες του Mendel έγιναν περισσότερο αποδεκτές τα επόμενα χρόνια, όταν αποκαλύφθηκε από τον Walter Sutton ο ρόλος των χρωμοσωμάτων στη κληρονομικότητα. Τα χρωμοσώματα αποτελούσαν τη φυσική βάση αυτών που περιέγραψε ο Mendel. Οι "παραγόντες κληρονομικότητας" ονομάστηκαν γονίδια το 1909 από τον Wilhelm Johannsen και ο όρος Γενετική χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον άγγλο βιολόγο William Bateson. Τα επόμενα χρόνια έως και τις ημέρες μας η επιστήμη αυτή αναπτύχθηκε και εξελίχθηκε με ταχείς ρυθμούς.



Εικόνα 5.8. Το τετράγωνο του Punnett χρησιμοποιείται για την αναπαράσταση των τυχαιών συνδυασμών των γαμετών και σε μια διασταύρωση διυβριδισμού.

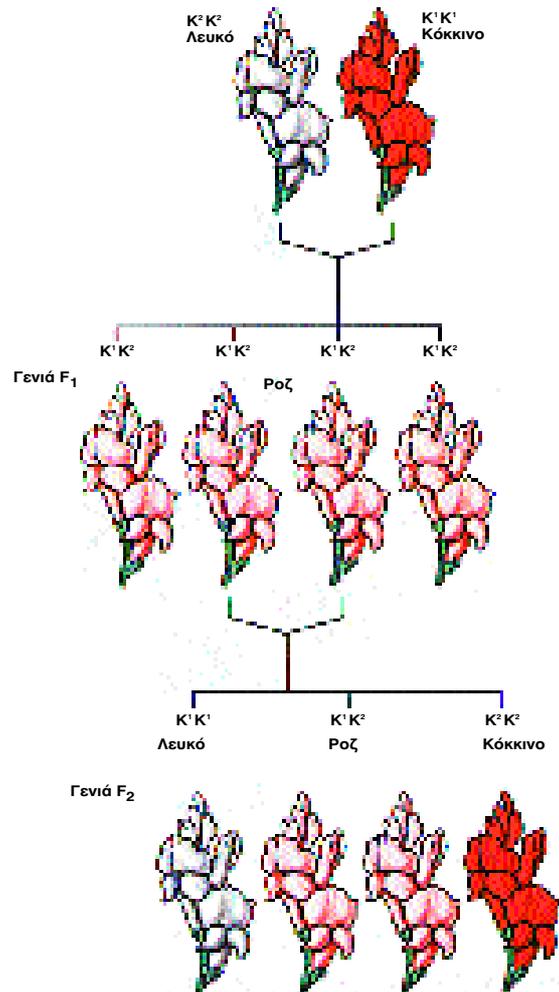
## Όταν η γονιδιακή έκφραση τροποποιεί τις αναλογίες που προκύπτουν από τους νόμους του Mendel

Μερικές φορές οι φαινοτυπικές αναλογίες των απογόνων δεν είναι αυτές που αναμένονται από τους νόμους του Mendel. Σε αυτές τις περιπτώσεις μπορεί να φαίνεται ότι δεν ισχύουν οι νόμοι του Mendel δεν συμβαίνει όμως αυτό στην πραγματικότητα. Μερικές από αυτές τις περιπτώσεις αναφέρονται στη συνέχεια.

### Ατελώς επικρατή και συνεπικρατή γονίδια

Μερικά γονίδια είναι **ατελώς επικρατή**, οπότε ο φαινότυπος ετερόζυγων ατόμων είναι ενδιάμεσος μεταξύ των δύο ομόζυγων. Όταν διασταυρώνεται ένα φυτό *Antirrhinum* (σκυλάκι) με κόκκινα άνθη ( $K^1K^1$ ) με ένα άλλο φυτό που έχει λευκά άνθη ( $K^2K^2$ ), οι απόγονοι της F<sub>1</sub> γενιάς έχουν άνθη με ενδιάμεσο χρώμα ( $K^1K^2$ ), ρόζ. Στην F<sub>2</sub> γενιά η γονοτυπική αναλογία είναι ίδια με τη φαινοτυπική, δηλαδή 1 κόκκινο ( $K^1K^1$ ): 2 ρόζ ( $K^1K^2$ ): 1 λευκό ( $K^2K^2$ ) (Εικόνα 5.9).

Επειδή σ' αυτή την περίπτωση ο φαινότυπος των ετε-



Εικόνα 5.9. Ατελώς επικρατή γονίδια που καθορίζουν το χρώμα ανθέων στο φυτό σκυλάκι. Από τη διασταύρωση ενός ομόζυγου επικρατούς φυτού με κόκκινα άνθη ( $K^1K^1$ ) με ένα ομόζυγο υπολειπόμενο φυτό με λευκά άνθη ( $K^2K^2$ ) προκύπτουν στην F<sub>1</sub> γενιά φυτά με ροζ άνθη ( $K^1K^2$ ). Στην F<sub>2</sub> γενιά δημιουργούνται φυτά με κόκκινα ( $K^1K^1$ ), ροζ ( $K^1K^2$ ) και λευκά ( $K^2K^2$ ) άνθη, σε αναλογία 1:2:1.

ρόζυγων ατόμων διαφέρει από το φαινότυπο των ομόζυγων, η αναλογία είναι διαφορετική από την αναλογία 3:1 που παρατηρείται στις περιπτώσεις των επικρατών υπολειπόμενων γονιδίων. Όταν ένα ετερόζυγο άτομο έχει φαινότυπο που είναι ενδιάμεσος ως προς τους αντίστοιχους των δύο γονέων του, τότε τα γονίδια του ονομάζονται ατελώς επικρατή. Σε τέτοιου τύπου διασταυρώσεις οι γονοτυπικές και φαινοτυπικές αναλογίες είναι ίδιες.

Υπάρχουν όμως περιπτώσεις στις οποίες στα ετερόζυγα άτομα εκφράζονται και τα δύο αλληλόμορφα στο φαινότυπο. Στην περίπτωση αυτή τα γονίδια ονομάζονται **συνεπικρατή**. Δύο από τα αλληλόμορφα του γονιδίου που καθορίζει τον τύπο των ομάδων αίματος ABO του ανθρώ-

που είναι συνεπικρατή. Τα άτομα με ομάδα αίματος A έχουν στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων τους αντιγόνο τύπου A. Άτομα ομάδας αίματος B έχουν αντιγόνο B. Ένα άτομο ομάδας αίματος AB έχει αντιγόνα A και B, ενώ ένα άτομο ομάδας αίματος O δεν έχει κανένα αντιγόνο.

Το γονίδιο I, που καθορίζει τις ομάδες αίματος, έχει τρία αλληλόμορφα. Τα I<sup>A</sup> και I<sup>B</sup> κωδικοποιούν τα ένζυμα που σχηματίζουν τα A και B αντιγόνα αντίστοιχα, ενώ το i δεν κωδικοποιεί κάποιο ένζυμο. Τα I<sup>A</sup> και I<sup>B</sup> είναι συνεπικρατή, ενώ το i είναι υπολειπόμενο. Άτομα ομάδας A έχουν γονότυπο I<sup>A</sup>I<sup>A</sup> ή I<sup>A</sup>i. Άτομα ομάδας B έχουν I<sup>B</sup>I<sup>B</sup> ή I<sup>B</sup>i, ενώ άτομα AB έχουν I<sup>A</sup>I<sup>B</sup>. Τα άτομα ομάδας O είναι ii. (Πίνακας 5.1).

**ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1: Τα αλληλόμορφα που καθορίζουν τις ομάδες αίματος A, B, O του ανθρώπου.**

Φαινότυπος (ομάδα αίματος)	Γονότυπος
A	I <sup>A</sup> I <sup>A</sup> ή I <sup>A</sup> i
B	I <sup>B</sup> I <sup>B</sup> ή I <sup>B</sup> i
AB	I <sup>A</sup> I <sup>B</sup>
O	ii

### Σκεφθείτε

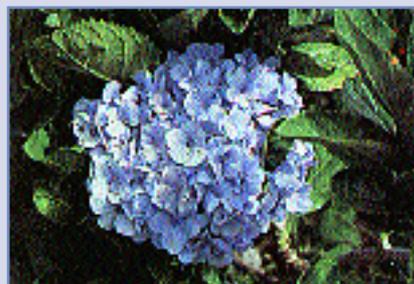
Είναι δυνατόν δύο γονείς που έχουν ομάδες αίματος A και B να αποκτήσουν ένα παιδί με ομάδα αίματος O;

### Όταν οι νόμοι του Mendel δεν εφαρμόζονται

Οι χαρακτήρες τους οποίους μελέτησε ο Mendel, παρ'όλο που δεν το ήξερε, ελέγχονται από γονίδια που βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα. Όταν τα γονίδια είναι στο ίδιο χρωμοσώμα, δε διαχωρίζονται κατά την μείωση, αλλά μεταφέρονται μαζί στους ίδιους γαμέτες. Ο όρος **σύνδεση** αφορά τη μεταβίβαση των γονιδίων που βρίσκονται στο ίδιο χρωμοσώμα. Τα συνδεδεμένα γονίδια δε μεταβιβάζονται ανεξάρτητα και δε δίνουν τις αναλογίες που καθόρισε ο Mendel για τις διασταυρώσεις μονοϋβριδισμού και διυβριδισμού. Μία άλλη περίπτωση κατά την οποία δεν εφαρμόζονται οι νόμοι του Mendel είναι η κληρονομικότητα των γονιδίων που βρίσκονται στο μιτοχονδριακό DNA. Τα μιτοχονδριακά γονίδια μεταβιβάζονται μόνο από τη μητέρα στους απογόνους. Αυτό συμβαίνει επειδή τα σπερματοζώαρια δεν μεταφέρουν τα μιτοχονδριά τους κατά τη γονιμοποίηση στα ωάρια.

### Το περιβάλλον επιδρά στην έκφραση των γονιδίων

Η έκφραση ορισμένων γονιδίων είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη σε παράγοντες του περιβάλλοντος. Στη φαινυλκετονουρία, μια ασθένεια που εξετάζεται στις μεταλλάξεις, η κατάλληλη διατροφή μπορεί να εξαφανίσει ένα φαινότυπο. Η θερμοκρασία επίσης επηρεάζει τη γονιδιακή έκφραση σε ορισμένα ζώα. Στις γάτες του Σιαμ και στα κουνέλια των Ιμαλαίων, τα αυτιά, η μύτη, τα πόδια και η ουρά είναι πιο σκούρα από το υπόλοιπο σώμα, επειδή αυτά τα μέρη είναι πιο κρύα. Η δράση των ενζύμων που είναι υπεύθυνα για το χρώμα εξαρτάται από τη θερμοκρασία του σώματος και αναστέλεται σε υψηλές θερμοκρασίες. Στη *Drosophila*, επίσης, γονίδια ευαίσθητα στη θερμοκρασία οδηγούν σε παράξενους φαινότυπους. Τα φυτά της φωτογραφίας που έχουν τον ίδιο γονότυπο αλλάζουν χρώμα ανάλογα με το pH του εδάφους.



### Θνησιγόνα αλληλόμορφα

Τα γονίδια αρχίζουν τη λειτουργία τους πολύ σύντομα μετά τη γονιμοποίηση. Μερικά αλληλόμορφα, όμως, δημιουργούν τόσο σοβαρά προβλήματα σε ένα έμβρυο που οδηγούν σε διακοπή της ανάπτυξης συνήθως πριν από την 8η εβδομάδα. Ένα τέτοιο άτομο δεν επιβιώνει μέχρι τη γέννηση και συνεπώς ο αντίστοιχος φαινότυπος χάνεται. Το αλληλόμορφο που προκαλεί πρόωρο θάνατο ονομάζεται **θνησιγόνο**. Τα θνησιγόνα αλληλόμορφα προκαλούν αυτόματες αποβολές, δηλαδή πρόωρο τερματισμό της κύησης. Όταν ένας άνδρας και μια γυναίκα έχουν ο

καθένας από ένα υπολειπόμενο θνησιγόνο αλληλόμορφο για το ίδιο γονίδιο, κάθε απόγονος τους έχει 25% πιθανότητα να είναι ομόζυγος για αυτά και συνεπώς να μην επιβιώνει μέχρι τη γέννηση.

### Πολλαπλά αλληλόμορφα

Έως τώρα έχουν αναφερθεί κυρίως περιπτώσεις όπου σε μια γενετική θέση, δηλαδή στη θέση στην οποία βρίσκεται ένα γονίδιο που καθορίζει ένα χαρακτήρα, αντιστοιχούν δύο αλληλόμορφα. Στις περισσότερες περιπτώσεις το ένα αλληλόμορφο είναι επικρατές και το άλλο υπολειπόμενο. Είναι επίσης γνωστό ότι στα διπλοειδή κύτταρα υπάρχουν δύο αλληλόμορφα για μία ορισμένη γενετική θέση, ενώ ένα απλοειδές κύτταρο, όπως ένας γαμέτης, έχει μόνο ένα. Εντούτοις, εάν εξετάσουμε ένα πληθυσμό ατόμων μπορεί να βρούμε περισσότερα από δύο αλληλόμορφα για μία γενετική θέση. Εάν στον πληθυσμό υπάρχουν τρία ή περισσότερα αλληλόμορφα για μία γενετική θέση, τότε αυτά ονομάζονται **πολλαπλά αλληλόμορφα**. Πολλά γονίδια που ευθύνονται για τη δημιουργία ασθενειών έχουν πολλαπλά αλληλόμορφα γονίδια, όπως συμβαίνει στη β-θαλασσαιμία. Συνήθως κάθε αλληλόμορφο σχετίζεται με διαφορετική μορφή της ίδιας ασθένειας, όπως η ήπια ή η σοβαρή. Τα γονίδια που καθορίζουν την ομάδα αίματος σύμφωνα με το σύστημα ABO είναι επίσης πολλαπλά αλληλόμορφα. Τα πολλαπλά αλληλόμορφα μπορεί να αλλάζουν τις αναλογίες των νόμων του Mendel, επειδή δημιουργούν πολλά είδη φαινοτύπων λόγω των διαφορετικών συνδυασμών που γίνονται.

## Στον άνθρωπο εφαρμόζεται η Μενδελική κληρονομικότητα

Το μοσχομπίζελο είναι ιδανικό για τη μελέτη του τρόπου μεταβίβασης των κληρονομικών χαρακτήρων, δηλαδή των **τύπων κληρονομικότητας**. Στον άνθρωπο όμως η μελέτη αυτή εμφανίζει πολλές δυσκολίες. Αυτό συμβαίνει, επειδή οι άνθρωποι έχουν μικρό αριθμό απογόνων, ενώ η κάθε γενιά έχει μεγάλη διάρκεια, περίπου 20-30 χρόνια. Επιπλέον στον άνθρωπο δεν είναι δυνατόν να γίνουν διασταυρώσεις ανάλογες με εκείνες που έκανε ο Mendel, χρησιμοποιώντας το μοσχομπίζελο. Παρ' όλες τις δυσκολίες η Γενετική Ανθρώπου έχει προσδεύσει λόγω του μεγάλου ενδιαφέροντος που υπάρχει για την κατανόηση του τρόπου κληρονομής διάφορων χαρακτήρων από τους γονείς στους απογόνους.

Η μελέτη του τρόπου κληρονομής των διάφορων χα-

ρακτήρων γίνεται στα άτομα μεγάλων οικογενειών. Όσο περισσότερα άτομα μπορούν να μελετηθούν σε μια οικογένεια τόσο ευκολότερο είναι να καθοριστεί ο τύπος κληρονομικότητας. Είναι βασικό να τονιστεί ότι στον άνθρωπο, το Μενδελικό τύπο κληρονομικότητας ακολουθούν οι χαρακτήρες που καθορίζονται από αλληλόμορφα ενός μόνο γονιδίου. Αυτοί ονομάζονται **μονογονιδιακοί χαρακτήρες** και σε αυτούς περιλαμβάνονται διάφορες μονογονιδιακές ασθένειες.

### Τα γενεαλογικά δένδρα είναι σημαντικό εργαλείο για τη Γενετική του Ανθρώπου

Οι πληροφορίες που συλλέγονται από το ιστορικό μιας οικογένειας για έναν ορισμένο χαρακτήρα αναπαριστώνται σε ένα γενεαλογικό δένδρο, που περιγράφει τις σχέσεις γονέων και παιδιών σε πολλές γενιές. Το **γενεαλογικό δένδρο**, δηλαδή, είναι η διαγραμματική απεικόνιση των μελών μιας οικογένειας για πολλές γενιές, στην οποία αναπαριστώνται οι γάμοι, η σειρά των γεννήσεων, το φύλο των ατόμων και ο φαινότυπός τους σε σχέση με κάποιο συγκεκριμένο χαρακτήρα.

Κάθε άτομο που απεικονίζεται στο γενεαλογικό δένδρο χαρακτηρίζεται από δύο αριθμούς: έναν λατινικό, ο οποίος προσδιορίζει τη γενιά του ατόμου (σε σχέση με την πατρική) και έναν αραβικό, ο οποίος δηλώνει τη σειρά γέννησης του ατόμου από ένα γάμο. Τα αρσενικά άτομα αναπαριστώνται με ένα τετράγωνο και τα θηλυκά με έναν κύκλο. Για άτομα των οποίων δε γνωρίζουμε το φύλο χρησιμοποιείται ο ρόμβος. Χρησιμοποιούνται επίσης σύμβολα για να αναπαραστήσουν τους γάμους ανάμεσα σε δύο άτομα, τους απογόνους ενός γάμου, τα άτομα που εμφανίζουν ένα συγκεκριμένο χαρακτήρα, καθώς και πολλά άλλα στοιχεία. Τα σύμβολα που χρησιμοποιούνται παρατίθενται στην εικόνα 5.10.

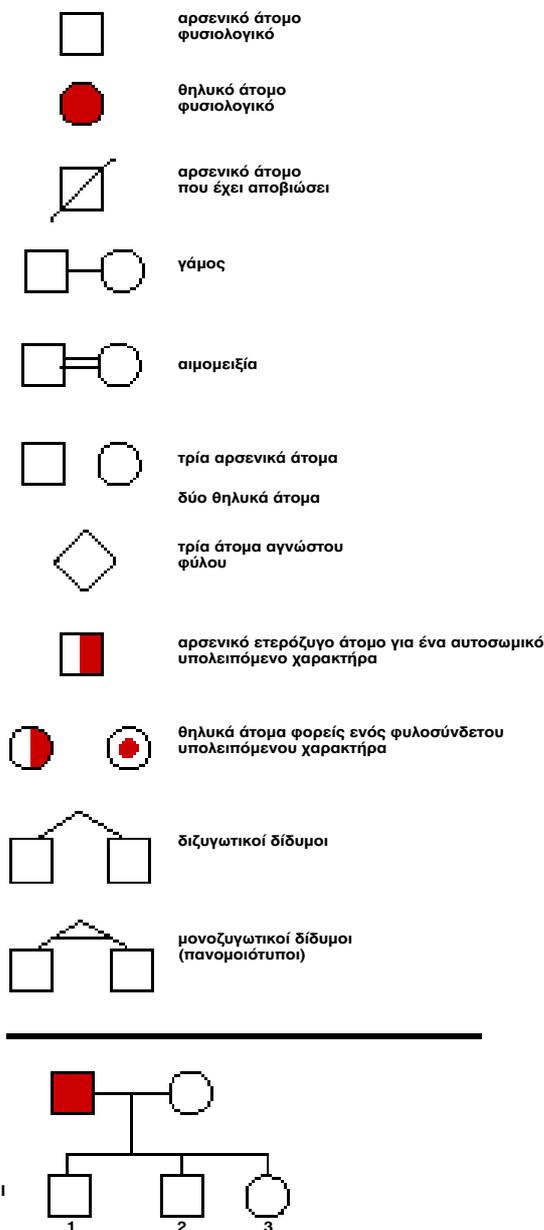
Τα γενεαλογικά δένδρα συνεισφέρουν σημαντικά στη μελέτη του τρόπου κληρονομής διάφορων χαρακτήρων και βοηθούν στη γενετική καθοδήγηση.

Στο γενεαλογικό δένδρο της εικόνας 5. 11. μελετάται σε μια οικογένεια ο τρόπος κληρονομής δύο χαρακτήρων, της γραμμής τριχοφυίας με κορυφή (επικρατής αυτοσωμικός) και των προσκολλημένων λοβών αυτιών (υπολειπόμενος αυτοσωμικός). Ο χαρακτήρας γραμμής τριχοφυίας με κορυφή καθορίζεται από ένα επικρατές αυτοσωμικό αλληλόμορφο που συμβολίζεται με Γ. Όλα τα άτομα στην οικογένεια που δεν εμφανίζουν κορυφή είναι ομόζυγα υπολειπόμενα με γονότυπο γγ. Είναι προφανές ότι ο παππούς και η γιαγιά είναι ετερόζυγοι, γιατί εάν ήταν ομόζυγοι όλοι οι απόγονοί τους θα είχαν γραμμή τριχοφυίας με κορυφή.

Στην ίδια εικόνα φαίνεται το γενεαλογικό δένδρο της ίδιας οικογένειας αλλά αυτή τη φορά αναλύεται ένας υπολειπόμενος χαρακτήρας, συγκεκριμένα οι προσκολλημένοι λοβοί των αυτιών. Ο χαρακτήρας προσκολλημένοι λοβοί των αυτιών καθορίζεται από το υπολειπόμενο αλληλόμορφο που συμβολίζεται ε και το αντίστοιχο επικρατές Ε, επειδή δημιουργεί ελεύθερους λοβούς αυτιών. Από το γενεαλογικό δέντρο φαίνεται πως οι χαρακτήρες κληρονομούνται σύμφωνα με τους νόμους του Mendel.

Ένα γενεαλογικό δένδρο δεν μας βοηθά μόνο να καταλάβουμε το παρελθόν αλλά και να προσδιορίσουμε το

**Εικόνα 5.10. Τα κύρια σύμβολα που χρησιμοποιούνται στα γενεαλογικά δένδρα.**

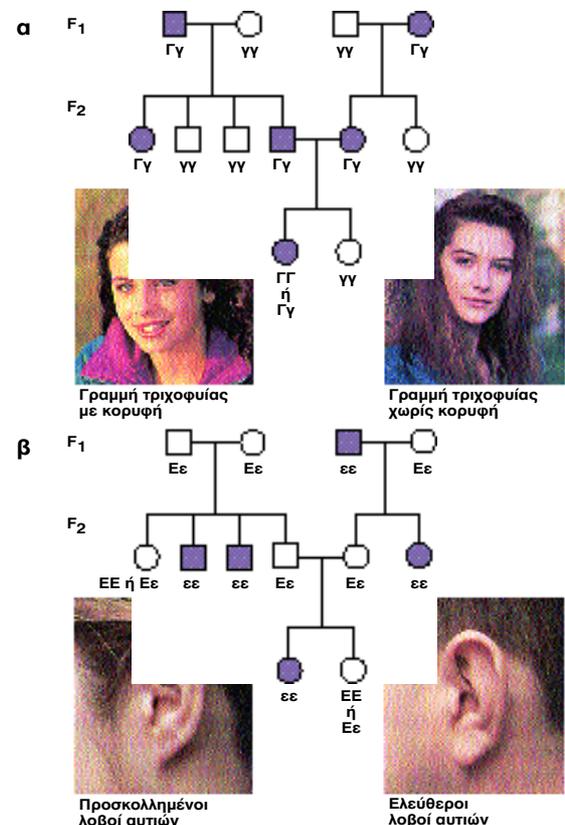


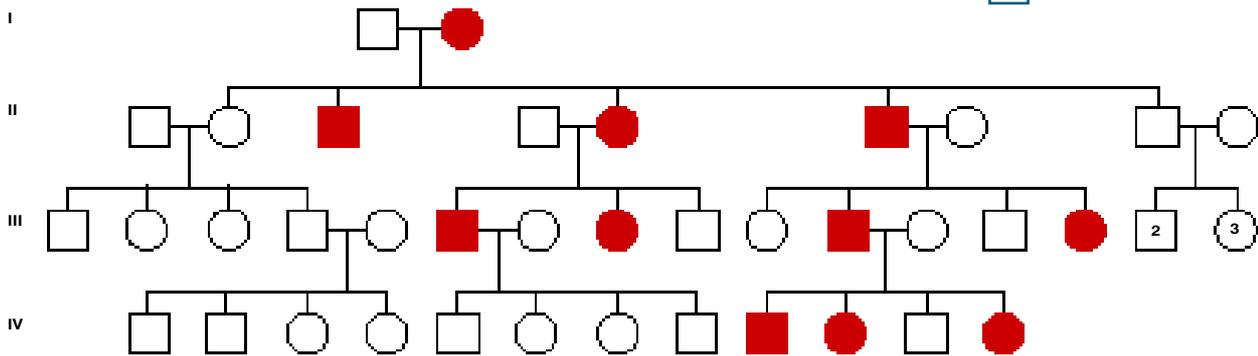
μέλλον. Υποθέστε ότι το ζευγάρι της δεύτερης γενιάς της Εικόνας 5.11 αποφασίζει να αποκτήσει ένα ακόμη παιδί. Ποιά είναι η πιθανότητα το παιδί να έχει γραμμή τριχοφυίας με κορυφή; Αυτό αποτελεί μια διασταύρωση  $F_1$  κατά Mendel ( $\Gamma\gamma \times \Gamma\gamma$ ) και επομένως η πιθανότητα το παιδί να έχει επικρατή φαινότυπο είναι  $3/4$ . Ποιά είναι η πιθανότητα το παιδί να έχει προσκολλημένους λοβούς; Αυτό αντιμετωπίζεται πάλι ως μια διασταύρωση μονοϋβριδισμού της  $F_1$  ( $Ee \times Ee$ ), αλλά αυτή τη φορά χρειάζεται να προσδιορισθεί η πιθανότητα ο απόγονος να είναι ομόζυγος υπολειπόμενος: Η πιθανότητα είναι  $1/4$ . Ποιά είναι η πιθανότητα το παιδί να έχει γραμμή τριχοφυίας με κορυφή και προσκολλημένους λοβούς; Εάν τα δύο ζευγάρια γονιδίων μεταβιβάζονται ανεξάρτητα το ένα από το άλλο, τότε η πιθανότητα θα είναι  $3/4$  (πιθανότητα για γραμμή τριχοφυίας με κορυφή)  $\times$   $1/4$  (πιθανότητα για προσκολλημένους λοβούς) =  $3/16$  (πιθανότητα για γραμμή τριχοφυίας με κορυφή και προσκολλημένους λοβούς). Η ανάλυση των γενεαλογικών δένδρων έχει ιδιαίτερη σημασία όταν τα αλληλόμορφα που μελετώνται σχετίζονται με τη δημιουργία ασθενειών.

**Εικόνα 5.11. Κληρονομικότητα αυτοσωμικών επικρατών και υπολειπόμενων χαρακτήρων στον άνθρωπο.**

**α. Κληρονομικότητα γραμμής τριχοφυίας με κορυφή επικρατούς χαρακτήρα (α).** Η κληρονομικότητα ανιχνεύεται σε τρεις γενιές.

**β. Κληρονομικότητα προσκολλημένων λοβών αυτιών, υπολειπόμενου χαρακτήρα (β).** Η κληρονομικότητα ανιχνεύεται στην ίδια οικογένεια.





Εικόνα 5.12. Το γενεαλογικό δένδρο μιας οικογένειας στην οποία εμφανίζεται, μια ασθένεια που κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τύπο κληρονομικότητας. Η ασθένεια εμφανίζεται σε κάθε γενιά τόσο σε αρσενικά όσο και σε θηλυκά άτομα.

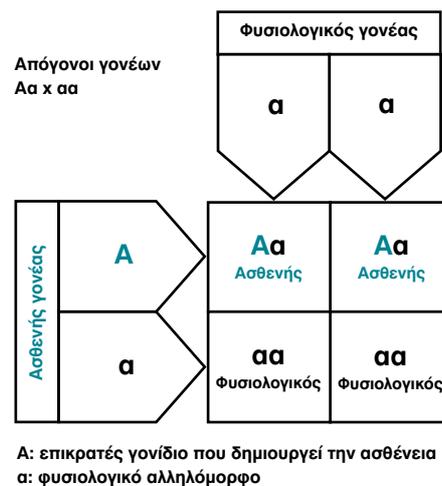
### Αυτοσωμική επικρατής κληρονομικότητα

Πολλές από τις ασθένειες που έχουν μελετηθεί στον άνθρωπο ελέγχονται από αυτοσωμικά επικρατή γονίδια. Η συχνότητα μερικών ασθενειών που κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο είναι αρκετά υψηλή, όπως συμβαίνει με την οικογενή υπερχοληστερολαιμία (συχνότητα 1:500 άτομα), που σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο πρώιμης εμφάνισης στεφανιαίας νόσου.

Στην κλασική αυτοσωμική επικρατή κληρονομικότητα κάθε ασθενής στο γενεαλογικό δένδρο έχει ένα τουλάχιστον ασθενή γονέα (Εικόνα 5.12). Στις περισσότερες από τις περιπτώσεις που έχουν μελετηθεί ο ένας γονέας είναι συνήθως ετερόζυγος για το συγκεκριμένο γονίδιο και ο άλλος ομόζυγος για το φυσιολογικό υπολειπόμενο αλληλόμορφο. Συνεπώς οι γονότυποι των γονέων συμβολίζονται  $Aa \times aa$ , όπου  $A$  επικρατές γονίδιο που σχετίζεται με την ασθένεια και  $a$  το φυσιολογικό αλληλόμορφο (Εικόνα 5.13).

Κάθε απόγονος των ανωτέρω γονέων έχει 50% πιθανότητα να κληρονομήσει το αλληλόμορφο  $A$  του ασθενούς γονέα και να είναι και ο ίδιος ασθενής ( $Aa$ ), καθώς και 50% πιθανότητα να κληρονομήσει το φυσιολογικό αλληλόμορφο  $a$  και να είναι φυσιολογικός ( $aa$ ). Ο φυσιολογικός γονέας μεταβιβάζει μόνο το φυσιολογικό αλληλόμορφο  $a$  σε κάθε παιδί του. Κάθε κύηση είναι ένα ανεξάρτητο γεγονός, που δε σχετίζεται με το αποτέλεσμα προηγούμενων κύσεων. Η θεωρητικά αναμενόμενη αναλογία 1:1 φυσιολογικών και ασθενών ατόμων, η οποία παρατηρείται στον πληθυσμό μπορεί να είναι διαφορετική, όταν εξετάζεται ο μικρός αριθμός των ατόμων μέσα σε μια οικογένεια.

Στο γενεαλογικό δένδρο της εικόνας 5.12 είναι εμφανές ότι κάθε ασθενής άτομο έχει έναν ασθενή γονέα, καθώς και ότι η ασθένεια προσβάλλει τόσο αρσενικά όσο και θηλυκά άτομα. Τα μέλη της οικογένειας που είναι φυσιολογικά έχουν μόνο φυσιολογικούς απογόνους.

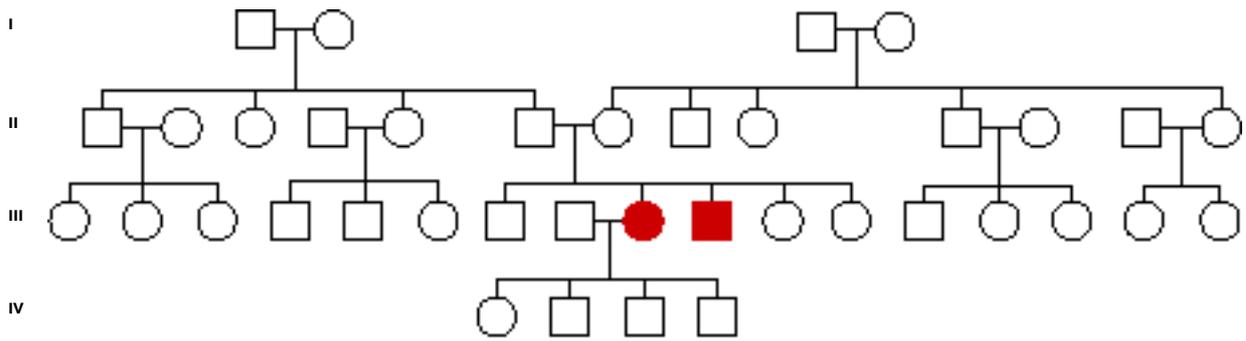


Εικόνα 5.13. Τετράγωνο του Punnett όπου φαίνονται οι πιθανοί γενετικοί συνδυασμοί για ένα χαρακτήρα που κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τύπο κληρονομικότητας.

Εξάιρεση από όσα αναφέρθηκαν ανωτέρω αποτελούν οι περιπτώσεις εκείνες κατά τις οποίες η διαταραχή που εξετάζεται οφείλεται σε μια νέα μετάλλαξη, δηλαδή εμφανίζεται για πρώτη φορά μέσα στην οικογένεια.

### Αυτοσωμική υπολειπόμενη κληρονομικότητα

Σημαντικό ποσοστό από τις ασθένειες που έχουν μελετηθεί στον άνθρωπο ελέγχονται από αυτοσωμικά υπολειπόμενα γονίδια. Η δρεπανοκυτταρική αναιμία, η  $\beta$ -θαλασσαιμία και η κυστική ίνωση κληρονομούνται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Σε αντίθεση με τις αυτοσωμικές επικρατές ασθένειες, στις οποίες τα ασθενή άτομα είναι συνήθως ετερόζυγα, οι αυτοσωμικές υπολειπόμενες ασθένειες εκφράζονται μόνο στα ομόζυγα άτομα, τα οποία να έχουν κληρονομήσει ένα παθολογικό αλληλόμορφο από κάθε γονέα. Στην εικόνα 5.14 φαίνεται ένα κλασικό γενεαλογικό δένδρο. Συνήθως και οι δύο γονείς ενός ασθενούς είναι ετερόζυγοι έχουν φυσιο-



Εικόνα 5.14. Τυπικό γενεαλογικό δένδρο όπου μελετάται μια ασθένεια που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας.

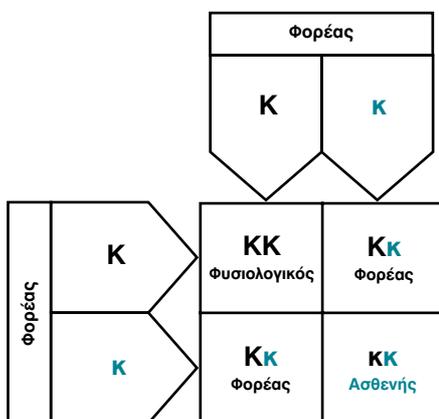
λογικό φαινότυπο και ονομάζονται **φορείς**, επειδή μπορούν να μεταβιβάσουν το υπολειπόμενο αλληλόμορφο στους απογόνους. Στην περίπτωση που και οι δύο γονείς είναι φορείς, η πιθανότητα γέννησης παιδιού που πάσχει είναι 25% (Εικόνα 5.15).

Η πιθανότητα και οι δύο σύζυγοι να είναι φορείς της ίδιας ασθένειας που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο είναι πολύ μικρή. Αυξάνεται όμως σε περίπτωση που οι δύο σύζυγοι είναι στενοί συγγενείς, όπως αδέρφια ή ξαδέλφια. Αυτό συμβαίνει, επειδή τα άτομα με κοινούς προγόνους είναι πιθανότερο να έχουν τα ίδια υπολειπόμενα αλληλόμορφα σε σχέση με άτομα μη συγγενικά. Στην περίπτωση που υπάρχει αιμομειξία συμβολίζεται στο γενεαλογικό δένδρο με διπλή γραμμή (Εικόνα 5.10).

### Φυλοσύνδετη υπολειπόμενη κληρονομικότητα

Στον άνθρωπο υπάρχει ένα ζεύγος χρωμοσωμάτων, που ονομάζονται φυλετικά και διαφέρουν ανάμεσα σε αρσενικά και θηλυκά άτομα. Τα φυσιολογικά θηλυκά άτομα έχουν ένα ζεύγος όμοιων X χρωμοσωμάτων, ενώ τα φυ-

Εικόνα 5.15. Τετράγωνο του Punnett, όπου φαίνονται οι πιθανοί γενετικοί συνδυασμοί για ένα χαρακτήρα που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας.



σιολογικά αρσενικά άτομα έχουν ένα X και ένα Y χρωμόσωμα. Τα γονίδια που βρίσκονται στο X χρωμόσωμα και δεν έχουν αλληλόμορφα στο Y ονομάζονται φυλοσύνδετα και ο τρόπος με τον οποίο κληρονομούνται αναφέρεται ως φυλοσύνδετη κληρονομικότητα.

Η αιμορροφιλία A είναι μια κλασική φυλοσύνδετη διαταραχή, στην οποία το αίμα δεν πήζει φυσιολογικά λόγω έλλειψης του παράγοντα VIII, μιας αντιαιμορροφιλικής πρωτεΐνης. Το γονίδιο που είναι υπεύθυνο για την εμφάνιση της ασθένειας είναι υπολειπόμενο φυλοσύνδετο και συμβολίζεται με  $X^a$ . Το φυσιολογικό αλληλόμορφο συμβολίζεται με  $X^A$ . Επειδή τα αρσενικά άτομα έχουν ένα X χρωμόσωμα ενώ τα θηλυκά έχουν δύο, θα υπάρχουν δύο πιθανοί γονότυποι στα αρσενικά και τρεις στα θηλυκά (Πίνακας 5.2).

Η κληρονομικότητα των φυλοσύνδετων υπολειπόμενων γονιδίων ακολουθεί ένα εύκολα αναγνωρίσιμο πρότυπο (Εικόνα 5.16). Ενα υπολειπόμενο φυλοσύνδετο γονίδιο εκφράζεται φαινοτυπικά σε όλα τα αρσενικά άτομα που φέρουν το γονίδιο αλλά μόνο σε εκείνα τα θηλυκά που είναι ομόζυγα για το υπολειπόμενο γονίδιο. Συνεπώς, οι ασθένειες που ελέγχονται από υπολειπόμενα φυλοσύνδετα γονίδια εμφανίζονται συχνότερα στα αρσενικά άτομα και πάρα πολύ σπάνια στα θηλυκά άτομα.

Ο τρόπος κληρονομησης της αιμορροφιλίας έχει μελετηθεί από πολύ παλιά. Ήταν γνωστό ότι η βασίλισσα Victoria (Εικόνα 5.17) ήταν φορέας και μεταβίβασε τη “βασιλική αιμορροφιλία” στους απογόνους της.

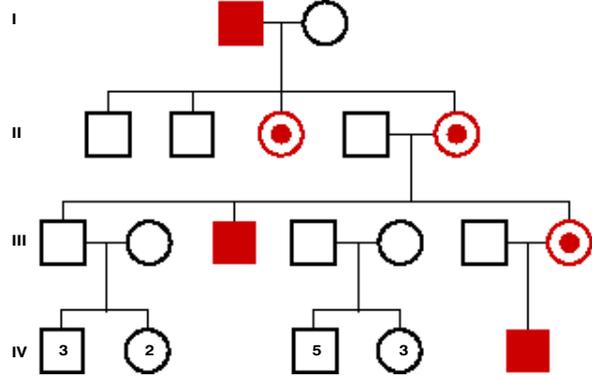
Εάν ένας αιμορροφιλικός άντρας παντρευτεί μια γυναίκα φυσιολογική (ομόζυγη), όλοι οι αρσενικοί απόγονοι του θα πάρουν το Y χρωμόσωμα από τον πατέρα τους και το X

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.2: Πιθανοί γονότυποι αρσενικών και θηλυκών ατόμων για την αιμορροφιλία.

Γονότυποι	Φαινότυποι
Αρσενικά	$X^A Y$ Φυσιολογικός
	$X^a Y$ Ασθενής
Θηλυκά	$X^A X^A$ Ομόζυγη φυσιολογική
	$X^A X^a$ Ετερόζυγη (φορέας)
	$X^a X^a$ Ομόζυγη ασθενής

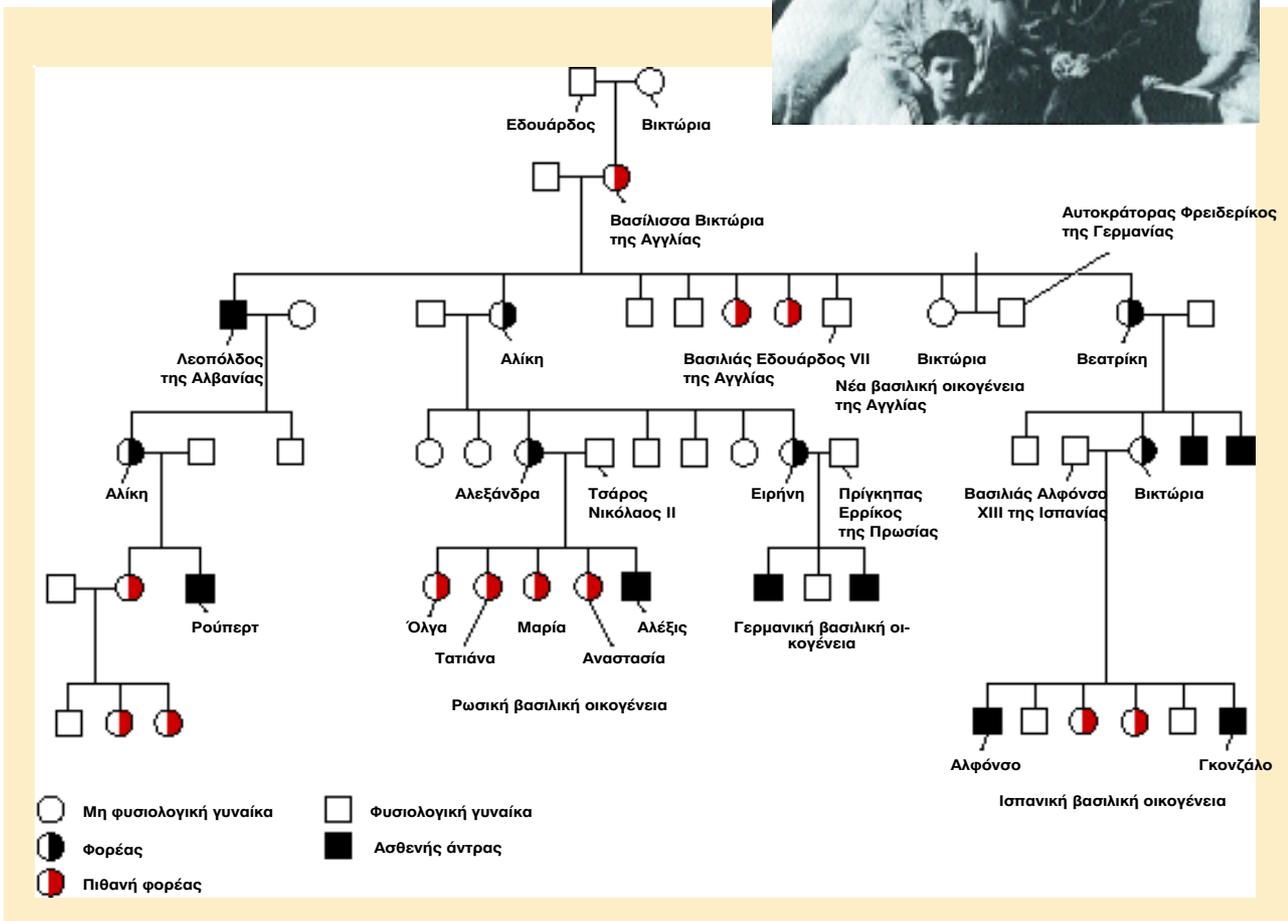
από τη μητέρα τους και θα είναι υγιείς, ενώ όλοι οι θηλυκοί απόγονοι θα είναι υποχρεωτικά φορείς (Εικόνα 5.18). Ας υποθέσουμε τώρα ότι ένας θηλυκός απόγονος της προηγούμενης περίπτωσης, δηλαδή μια φορέας της ασθένειας, παντρεύεται ένα φυσιολογικό άνδρα. Δημιουργούνται απόγονοι με τέσσερις γονοτύπους, που εμφανίζονται με ίση συχνότητα (Εικόνα 5.19). Είναι προφανές ότι η αιμορροφιλία που εμφάνιζε ο παππούς και η οποία δεν εκδηλώθηκε σε κανένα από τα παιδιά του έχει 50% πιθανότητα να μεταβιβαστεί, μέσω της κόρης του, στα αρσενικά εγγόνια του. Η κόρη μιας γυναίκας φορέα έχει επίσης 50% πιθανότητα να είναι και η ίδια φορέας, εάν ο πατέρας της είναι φυσιολογικός.

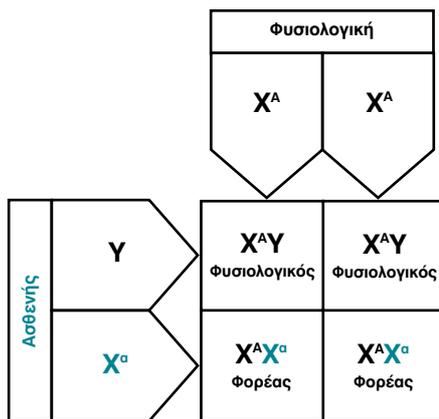
Με τον ίδιο τύπο κληρονομικότητας κληρονομείται και η μερική αχρωματοψία στο πράσινο και το κόκκινο χρώμα. Στο μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος X του ανθρώπου βρίσκονται γονίδια που μας δίνουν τη δυνατότητα να αντιλαμβανόμαστε το κόκκινο και πράσινο χρώμα. Μεταλλαγμένα αλληλόμορφα των γονιδίων αυτών έχουν ως αποτέλεσμα την μερική αχρωματοψία. Τα γονίδια για το κυανό χρώμα είναι αυτοσωμικά.



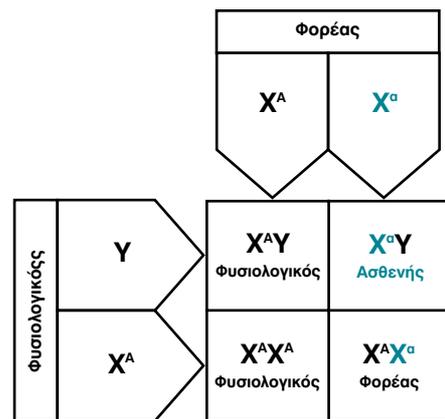
Εικόνα 5.16. Γενεαλογικό δένδρο μιας ασθένειας που κληρονομείται με φυλοσύνδετο υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας, όπως η αιμορροφιλία Α.

Εικόνα 5.17. Η κληρονομικότητα της αιμορροφιλίας Α στην οικογένεια της βασίλισσας Βικτώριας της Μεγάλης Βρετανίας.





Εικόνα 5.18. Τετράγωνο του Punnett, όπου φαίνονται οι πιθανοί γενετικοί συνδυασμοί στην αιμορροφιλία Α, όταν η μητέρα είναι φυσιολογική και ο πατέρας ασθενής.



Εικόνα 5.19. Τετράγωνο του Punnett, όπου φαίνονται οι πιθανοί γενετικοί συνδυασμοί στην αιμορροφιλία Α όταν η μητέρα είναι φορέας και ο πατέρας φυσιολογικός.

### Σκεφθείτε

Ποιες προϋποθέσεις απαιτούνται για να εκδηλωθεί ένα φυλοσύνδετο υπολειπόμενο γνώρισμα α. στα αρσενικά άτομα, β. στα θηλυκά άτομα.

### Σκεφθείτε

Εάν άνδρας με μερική αχρωματοψία παντρευτεί μία φυσιολογική γυναίκα κανένα από τα παιδιά του δεν έχει αχρωματοψία. Αλλά αν μία από τις κόρες του παντρευτεί ένα φυσιολογικό άνδρα τότε υπάρχει 50% πιθανότητα οι γιοί τους να έχουν μερική αχρωματοψία. Πως μπορεί να εξηγηθεί αυτό;

### Περίληψη

Ο Gregor Mendel περιέγραψε δύο βασικούς νόμους της κληρονομικότητας, το νόμο του διαχωρισμού των αλληλόμορφων γονιδίων και το νόμο της ανεξάρτητης μεταβίβασης, βασιζόμενος στα αποτελέσματα διασταυρώσεων που έκανε στο φυτό μωσχομπίζελο.

Ο νόμος του διαχωρισμού των αλληλόμορφων καθορίζει ότι τα αλληλόμορφα ενός γονιδίου κατανέμονται σε διαφορετικούς γαμέτες κατά τη μείωση. Ένα διπλοειδές άτομο με δύο πανομοιότυπα αλληλόμορφα ενός γονιδίου είναι ομόζυγο ενώ ένα ετερόζυγο έχει δύο διαφορετικά αλληλόμορφα. Ένα γονίδιο μπορεί να έχει πολλά αλληλόμορφα, που ονομάζονται πολλαπλά.

Τα επικρατή αλληλόμορφα καλύπτουν την έκφραση των υπολειπόμενων. Ένα άτομο μπορεί να είναι ομόζυγο επικρατές, ομόζυγο υπολειπόμενο ή ετερόζυγο.

Η διασταύρωση ελέγχου αποκαλύπτει έναν άγνωστο γονότυπο εάν γίνει διασταύρωση του ατόμου με τον άγνωστο γονότυπο με έναν ομόζυγο υπολειπόμενο για τον ίδιο χαρακτήρα.

Ο νόμος της ανεξάρτητης μεταβίβασης, περιγράφει τη μεταβίβαση δύο ή περισσότερων γονιδίων που βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα. Δηλώνει ότι τυχαία μεταβίβαση μητρικής και πατρικής προέλευσης χρωμοσωμάτων κατά τη μείωση δημιουργεί γαμέτες που έχουν διαφορετικούς συνδυασμούς αυτών των γονιδίων.

Στον άνθρωπο οι χαρακτήρες που καθορίζονται από ένα μόνον γονίδιο ακολουθούν Μενδελικό τύπο κληρονομικότητας. Μελετώνται στα γενεαλογικά δένδρα που αποτελούν απεικόνιση των μελών μιας οικογένειας και των μεταξύ τους συγγενικών σχέσεων και εμφανίζουν τον τρόπο κληρονομής ενός χαρακτήρα. Ένας χαρακτήρας που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο μπορεί να επηρεάσει αρσενικά και θηλυκά άτομα και μπορεί να μην εμφανιστεί σε μια γενιά. Ένας χαρακτήρας που κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο επηρεάζει αρσενικά και θηλυκά άτομα και εμφανίζεται σε κάθε γενιά. Ένα γονίδιο που υπάρχει στο Χ χρωμόσωμα και δεν έχει αλληλόμορφο στο Υ ονομάζεται φυλοσύνδετο. Ένας φυλοσύνδετος υπολειπόμενος χαρακτήρας εμφανίζεται σε όλα τα αρσενικά άτομα που τον φέρουν, ενώ τα θηλυκά άτομα που είναι φορείς δεν τον εκφράζουν. Μια μητέρα φορέας μπορεί να γεννήσει αγόρια που εμφανίζουν το χαρακτήρα.

## Ερωτήσεις

1. Τα γονίδια που βρίσκονται στην ίδια γενετική θέση των ομολόγων χρωμοσωμάτων και ελέγχουν την ίδια ιδιότητα ονομάζονται ..... Ένα άτομο που έχει ίδια ..... γονίδια για μια συγκεκριμένη ιδιότητα ονομάζεται ..... ενώ αν έχει δυο διαφορετικά ονομάζεται ..... Ένα ..... γονίδιο καλύπτει την έκφραση του υπολειπόμενου. Το σύνολο των αλληλομόρφων γονιδίων ενός οργανισμού αναφέρεται ως .....

2. Περιγράψτε μια διασταύρωση που βασίζεται στην αρχή της ανεξάρτητης μεταβίβασης των γονιδίων. Αναλύστε τον τρόπο με τον οποίο διαχωρίζονται τα γονίδια και μεταβιβάζονται στους απογόνους.

3. Ένας καφέ ποντικός διασταυρώνεται πολλές φορές με ένα λευκό ποντικό και όλοι οι απόγονοι του είναι καφέ. α. Εάν διασταυρωθούν δύο από τους καφέ απογόνους της  $F_1$ , ποιο ποσοστό από τους ποντικούς της  $F_2$  γενιάς, θα είναι καφέ; β. Πως μπορείτε να διαπιστώσετε εάν ένας καφέ ποντικός είναι ομόζυγος ή ετερόζυγος;

4. Εάν όλοι οι απόγονοι μιας λευκής κότας και ενός μαύρου κόκκορα είναι γκριζοί τα γονίδια που καθορίζουν το χρώμα είναι:

- α. φυλοσύνδετα
- β. ατελώς επικρατή
- γ. συνεπικρατή

5. Ένας άνδρας είναι φορέας δρεπανοκυτταρικής αναιμίας (Δδ). Τα αλληλόμορφα γονίδια, που παριστώνται με τα γράμματα Δ και δ βρίσκονται;

- α. στα Χ και Υ χρωμοσώματα
- β. σε ομόλογα χρωμοσώματα
- γ. σε όλα τα σπερματοζωάρια του άνδρα υπάρχουν και τα δύο γονίδια
- δ. στο ίδιο χρωμόσωμα

6. Ένας άνδρας που έχει ομάδα αίματος Β και μια γυναίκα που έχει ομάδα αίματος Α μπορεί να έχουν παιδιά με φαινότυπο:

- α. μόνο Α ή μόνο Β
- β. μόνο ΑΒ
- γ. ΑΒ ή Ο
- δ. Α, Β ή Ο
- ε. Α, Β, ΑΒ ή Ο

7. Αντιστοιχίστε τους όρους της στήλης Α με τους ορισμούς της στήλης Β:

1. Αυτοσωμική επικρατής κληρονομικότητα

2. Αυτοσωμική υπολειπόμενη κληρονομικότητα

3. Φυλοσύνδετη κληρονομικότητα

α. Ένα παιδί έχει 25% πιθανότητα να πάσχει από μια ασθένεια

β. Μια γυναίκα φορέας μιας ασθένειας παντρεύεται ένα φυσιολογικό άντρα και αποκτούν ένα αγόρι που πάσχει από την ασθένεια.

γ. Μια ασθένεια εμφανίζεται με αναλογία 50% σε όλες τις γενιές στο γενεαλογικό δέντρο μιας οικογένειας.

8. Η ασθένεια Huntington είναι μία ασθένεια του κεντρικού νευρικού συστήματος που κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο και τα συμπτώματα της οποίας εμφανίζονται σε ηλικία 35 έως 45 ετών. Ποια είναι η πιθανότητα ένα άτομο που πάσχει από αυτή την ασθένεια να την μεταδώσει στο παιδί του και ποιά στον εγγονό του;

α.  $\frac{1}{2}$  β.  $\frac{1}{4}$  γ. Άλλο

9. Ο Γιάννης και ο παππούς του, από τη μητέρα, είναι αιμορροφιλικοί και πάσχουν από αιμορροφιλία Α. Ο Γιάννης και η Μαρία έχουν ένα γιο το Γρηγόρη και δύο κόρες, τη Χαρά και την Περσεφόνη, που πάσχουν όλοι από αιμορροφιλία. Έχουν επίσης και μια κόρη την Ελένη που δεν πάσχει από αιμορροφιλία. (Υποθέτουμε ότι τα θηλυκά άτομα με αιμορροφιλία επιζούν, κάτι που δεν συμβαίνει στην πραγματικότητα).

- α. Σχεδιάστε το γενεαλογικό δέντρο
- β. Γιατί η Χαρά και η Περσεφόνη πάσχουν.
- γ. Ποια η πιθανότητα ένας γιος της Χαράς να είναι αιμορροφιλικός.
- δ. Ποια η πιθανότητα ένας γιος της Ελένης να είναι αιμορροφιλικός;
- ε. Ποια η πιθανότητα μια κόρη της Ελένης να είναι αιμορροφιλική;

10. Υπάρχει περίπτωση σε μια διασταύρωση διυβριδισμού στην οποία η φαινοτυπική αναλογία των απογόνων στην  $F_2$  να είναι διαφορετική από την αναλογία 9:3:3:1; Αιτιολογήστε την απάντησή σας δίνοντας το κατάλληλο παράδειγμα.

11. Ένα ζευγάρι έχει ένα παιδί με μια αυτοσωμική επικρατή ασθένεια τη νευροϊνωμάτωση. Οι δυο γονείς είναι κλινικά φυσιολογικοί και κανείς στις οικογένειες

τους δεν έχει εμφανίσει αυτή την ασθένεια.

- α. Ποια εξήγηση δίνετε για την εμφάνιση της ασθένειας στο παιδί τους.
- β. Ποια πιθανότητα υπάρχει να εμφανίσει την ίδια ασθένεια και άλλα παιδιά τους.
- γ. Εάν ο σύζυγος ξαναπαντρευτεί και αποκτήσει παιδί με άλλη γυναίκα, ποια πιθανότητα υπάρχει να εμφανίσει αυτή την ασθένεια.
- δ. Ποια πιθανότητα να εμφανίσει την ασθένεια ένα μελλοντικό παιδί του ατόμου που πάσχει.

12. Εξηγήστε για ποιο λόγο η μερική αχρωματοψία εμφανίζεται συχνότερα στους άνδρες παρά στις γυναίκες.

13. Ο Δημοσθένης και η Ευτέρπη είναι υγιείς αλλά ξέρουν ότι είναι φορείς μιας αυτοσωμικής υπολειπόμενης ασθένειας. Εάν τα τρία πρώτα τους παιδιά είναι υγιή, ποια είναι η πιθανότητα το τέταρτο παιδί τους να κληρονομήσει την ασθένεια;

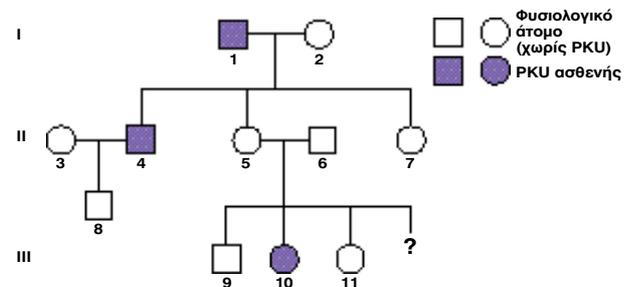
14. Από γονείς με ομάδα αίματος Β και κανονική όραση γεννήθηκε παιδί με ομάδα αίματος Ο και μερική αχρωματοψία. Να βρεθούν οι γονότυποι του πατέρα, της μητέρας και του παιδιού.

15. Ζευγάρι υγιών γονέων αποκτά παιδί με κυστική ίνωση, μια αυτοσωμική υπολειπόμενη ασθένεια. Από τη γυναίκα απομακρύνονται ωάρια τα οποία γονιμοποιούνται in vitro από το σπέρμα του συζύγου της. Από τα ωάρια

που γονιμοποιήθηκαν δημιουργήθηκαν 16 ζυγωτά, τα οποία ελέγχονται για την ύπαρξη του γονιδίου για την κυστική ίνωση. Σε πόσα από τα ζυγωτά με βάση τον πρώτο νόμο του Mendel, περιμένετε να υπάρχουν δύο αντίγραφα του γονιδίου για την κυστική ίνωση; Σε πόσα θα υπάρχει ένα αντίγραφο του γονιδίου για την κυστική ίνωση και ένα φυσιολογικό γονίδιο;

16. Το παρακάτω γενεαλογικό δέντρο αναπαριστά τον τρόπο κληρονομής της PKU σε μια οικογένεια:

- α. Η PKU οφείλεται σε επικρατές ή υπολειπόμενο γονίδιο; Κληρονομείται ως αυτοσωμικός ή φυλοσύνδετος χαρακτήρας;
- β. Προσδιορίστε τους γονότυπους των μελών της οικογένειας και αιτιολογήστε την απάντησή σας.
- γ. Ποιά η πιθανότητα ένα 4ο παιδί των γονέων 5 και 6 να πάσχει από PKU; Δώστε μια ερμηνεία.



### Εργασίες - Δραστηριότητες

1. Στον άνθρωπο η γραμμή τριχοφυίας, η ύπαρξη ή όχι φακίδων στο πρόσωπο και οι προσκολλημένοι ή ελεύθεροι λοβοί αυτιών κληρονομούνται ως μονογονιδιακοί χαρακτήρες. Μελετήστε τουλάχιστον έναν από αυτούς σε όσο το δυνατόν περισσότερα από τα μέλη της οικογένειάς σας. Με βάση τα στοιχεία που συγκεντρώσατε κατασκευάστε το γενεαλογικό δέντρο για το χαρακτήρα αυτόν. Προσπαθήστε να βγάλετε συμπεράσματα μέσα από το γενεαλογικό δέντρο για το τρόπο κληρονόμησης των γονιδίων που καθορίζουν τους παραπάνω χαρακτήρες.

2. Στο ακόλουθο πείραμα θα χρησιμοποιήσετε δύο κουτιά με χάντρες. Κάθε κουτί θα αναπαριστά ένα από τους δύο γονείς. Οι χάντρες στο κουτί αντιπροσωπεύουν τους γαμέτες που παράγουν. Το χρώμα της κάθε χάντρας αντιπροσωπεύει το είδος του γαμέτη. Για παράδειγμα μία κόκκινη χάντρα μπορεί να αντιπροσωπεύει τον γαμέτη με γονότυπο A, για σκούρο χρώμα μαλλιών και μία με κίτρινο χρώμα τον γαμέτη με γονότυπο a, για ανοικτό χρώμα μαλλιών.

Τοποθετήστε 100 κόκκινες χάντρες στο πρώτο κουτί. Αυτές αντιπροσωπεύουν τους γαμέτες ατόμου που είναι ομόζυγο AA.

Τοποθετήστε 50 κόκκινες χάντρες και 50 κίτρινες χάντρες στο δεύτερο κουτί. Αυτές αντιπροσωπεύουν τους γαμέτες ατόμου που είναι ετερόζυγο Aa.

Δίχως να βλέπετε τις χάντρες διαλέξτε μία χάντρα από το πρώτο και μία από το δεύτερο κουτί. Σημειώστε τον γονότυπο του ατόμου που προκύπτει από τον συνδυασμό τους. Τοποθετήστε τις χάντρες πίσω στα κουτιά.

Επαναλάβετε το βήμα 3 εκατό φορές.

Δοκιμάστε χρησιμοποιώντας διαφορετικούς γονότυπους όπως Aa και Aa.

Καταγράψτε τα είδη και την αναλογία των γονοτύπων που παρήχθησαν κατά την διασταύρωση

Τι αναλογίες αναμένετε από την διασταύρωση; Εξηγήστε την απάντησή σας

Γιατί χρειάζεται να μην βλέπουμε το χρώμα όταν διαλέγουμε τις χάντρες;

Γιατί χρειάζεται να επανατοποθετούμε τις χάντρες στα κουτιά;

### Βιο... περίπατοι στο Διαδίκτυο (Internet)

Όνομα ιστοσελίδας	Περιγραφή	Διεύθυνση στο Internet
1. MendelWeb	Τα πάντα γύρω από τη Μενδελική κληρονομικότητα	<a href="http://www-hpcc.astro.washington.edu/mirrors/MendelWeb/">http://www-hpcc.astro.washington.edu/mirrors/MendelWeb/</a>
2. Primer on Molecular Genetics	Στον κόμβο αυτό θα βρείτε εκτενείς παρουσιάσεις σχετικά με την Μοριακή Γενετική, τους στόχους της και τις μεθοδολογίες που χρησιμοποιεί.	<a href="http://www.bis.med.jhmi.edu/Dan/DOE/intro.html">http://www.bis.med.jhmi.edu/Dan/DOE/intro.html</a>
3. Blood Types Tutorial	Μια εκτεταμένη εισαγωγή καθώς και ασκήσεις σχετικά με τις ομάδες αίματος του ανθρώπου και τον τρόπο κληρονόμησής τους	<a href="http://www.biology.arizona.edu/human_bio/problem_sets/blood_types/Intro.html">http://www.biology.arizona.edu/human_bio/problem_sets/blood_types/Intro.html</a>
4. Population Genetics	Όσοι είναι "γεροί" στα μαθηματικά θα διαπιστώσουν ότι η λεγόμενη Πληθυσμιακή Γενετική τους επιφυλάσσει προκλήσεις...	<a href="http://piopio.school.nz/popgen.htm">http://piopio.school.nz/popgen.htm</a>
5.		
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		

(Προσθέστε επιπλέον διευθύνσεις σχετικές με το θέμα από τις δικές σας εξερευνήσεις του κυβερνοχώρου)



# Μεταλλάξεις



Ανάλυση χρωμοσωμάτων με τη μέθοδο FISH.

κεφάλαιο

6



## 6. Μεταλλάξεις

Το γενετικό υλικό μπορεί να υποστεί αλλαγές με πολλούς διαφορετικούς τρόπους. Το γεγονός αυτό δεν προκαλεί έκπληξη. Σκεφθείτε με πόσους τρόπους μπορεί να αλλάξουν οι λέξεις που υπάρχουν σ' αυτή τη σελίδα. Οι αλλαγές στην αλληλουχία του DNA, που ονομάζονται **μεταλλάξεις**, δημιουργούν συνήθως ένα διαφορετικό φαινότυπο, χωρίς όμως αυτό να είναι πάντοτε απαραίτητο. Αυτό εξαρτάται από τον τρόπο με τον οποίο η αλλαγή επιδρά στο γονιδιακό προϊόν, δηλαδή στην πρωτεΐνη.

Οι γενετιστές κατατάσσουν τις μεταλλάξεις σε δύο μεγάλες κατηγορίες: Τις **γονιδιακές** και τις **χρωμοσωμικές**. Ο τυπικός αυτός διαχωρισμός σχετίζεται με την έκταση της αλλαγής. Αν αυτή αφορά μικρό αριθμό βάσεων, στις οποίες συμβαίνει αντικατάσταση, προσθήκη ή έλλειψη, τότε ονομάζεται γονιδιακή μετάλλαξη. Αν αφορά αλλαγές σε μεγαλύτερο τμήμα του χρωμοσώματος, ονομάζεται χρωμοσωμική ανωμαλία.

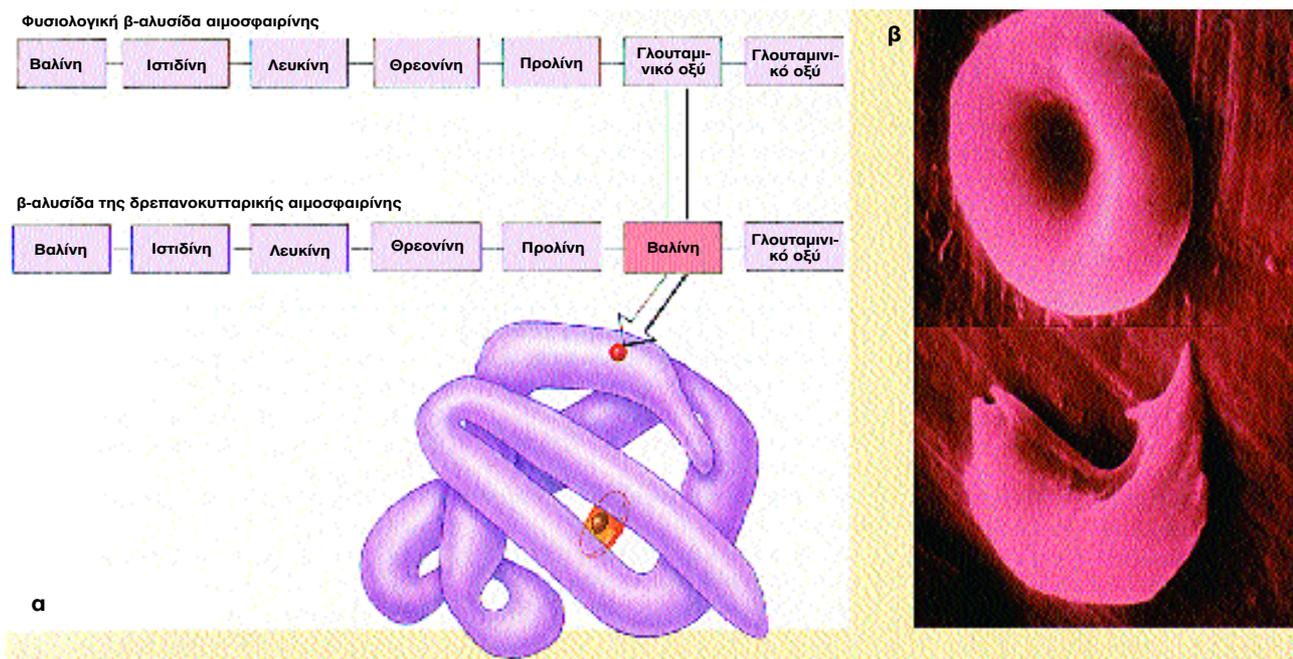
Οι μεταλλάξεις ευθύνονται για τη δημιουργία γενετικής ποικιλότητας στον πληθυσμό, για πολλές κληρονομικές ασθένειες, καθώς και για πολλές περιπτώσεις καρκίνου. Μεταλλάξεις μπορεί να συμβούν σε οποιοδήποτε γεννητικό ή σωματικό κύτταρο. Μόνο οι μεταλλάξεις των γεννητικών κυττάρων, εν τούτοις, μπορεί να μεταβιβαστούν από τη μια γενιά στην επόμενη και γι' αυτό είναι υπεύθυνες για τη δημιουργία κληρονομικών ασθενειών. Αυτό όμως δε σημαίνει ότι οι σωματικές μεταλλάξεις είναι λιγότερο σημαντικές για

την υγεία. Στην πραγματικότητα αποτελούν την πλειονότητα των μεταλλάξεων, δεδομένου ότι ένας ενήλικος οργανισμός αποτελείται από  $10^{13}$  περίπου κύτταρα.

### Η μελέτη της δρεπανοκυταρικής αναιμίας αποειδή σιαθμό στη κατανόηση των μηχανισμών δημιουργίας των μεταλλάξεων

Η πρώτη γενετική ασθένεια που βρέθηκε ότι είναι αποτέλεσμα συγκεκριμένης γονιδιακής μετάλλαξης ήταν η **δρεπανοκυταρική αναιμία**. Η ασθένεια οφείλει την ονομασία της στο χαρακτηριστικό δρεπανοειδές σχήμα που παίρνουν σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου τα ερυθροκύτταρα των ατόμων που πάσχουν. Τα δρεπανοκύτταρα εμποδίζουν τη φυσιολογική κυκλοφορία του αίματος στα τριχοειδή αγγεία. Το 1949, ο Linus Pauling και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν ότι η αιμοσφαιρίνη των ενηλίκων, HbA, που αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες, δύο α και δύο β, διέφερε στα φυσιολογικά άτομα σε σχέση με εκείνα που έπασχαν από δρεπανοκυταρική αναιμία. Η διαφορά εντοπίζεται στο έκτο αμινοξύ της β-πολυπεπτιδικής αλυσίδας, όπου το γλουταμινικό οξύ αντικαθίσταται από βαλίνη. Η μεταλλαγμένη αιμοσφαιρίνη συμβολίζεται ως HbS. Η αλλαγή στην ακολουθία των αμινοξέων είναι αποτέλεσμα μίας γονιδιακής μετάλλαξης

**Εικόνα 6.1.** Η δρεπανοκυταρική αναιμία δημιουργείται από μια μετάλλαξη του γονιδίου που κωδικοποιεί τη β πολυπεπτιδική αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης. α. Στο μοντέλο του μορίου της αιμοσφαιρίνης φαίνεται η ακριβής θέση της μετάλλαξης β. Φυσιολογικό ερυθροκύτταρο, επάνω και δρεπανοειδές ερυθροκύτταρο, κάτω.



στην τριπλέτα που κωδικοποιεί το γλουταμινικό οξύ. Στο μόριο του DNA δηλαδή, αλλάζει μια βάση και το φυσιολογικό κωδικόνιο GAG, που κωδικοποιεί το γλουταμινικό, αντικαθίσταται από το GTG, που κωδικοποιεί τη βαλίνη. Αυτή η μετάλλαξη οδηγεί σε αλλαγή της στερεοδιάταξης της αιμοσφαιρίνης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της μορφής των ερυθροκυττάρων, τα οποία παίρνουν χαρακτηριστικό δρεπανοειδές σχήμα (Εικόνα 6.1).

Ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία είναι ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο γονίδιο που συμβολίζεται με β<sup>s</sup>. Κατά συνέπεια παράγουν μόνο HbS, και καθόλου HbA. Τα ετερόζυγα άτομα (φορείς), που έχουν ένα φυσιολογικό β γονίδιο και ένα μεταλλαγμένο, είναι κλινικά φυσιολογικά. Στα άτομα αυτά συμβαίνει δρεπάνωση μόνο σε συνθήκες μεγάλης έλλειψης οξυγόνου, όπως σε υψόμετρο άνω των 3.000 m.

## Υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί τύποι γονιδιακών μεταλλάξεων

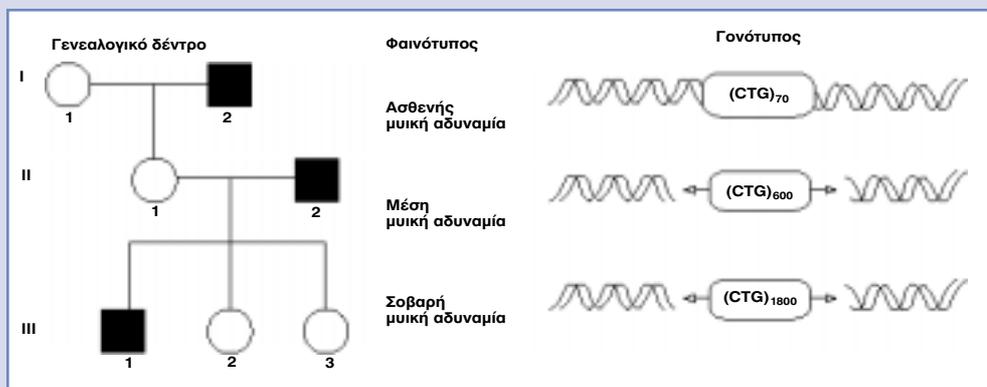
Το παράδειγμα της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας δείχνει ότι μία ασθένεια μπορεί να είναι το αποτέλεσμα αντικατάστασης μίας μόνο από τα δισεκατομμύρια βάσεων DNA! Αλλαγές αυτού του τύπου ονομάζονται **σημειακές μεταλλάξεις**, και μπορεί να έχουν ποικίλα αποτελέσματα στην πρωτεΐνη που παράγεται από το αντίστοιχο γονίδιο (Εικόνα 6.2). Στην περίπτωση που η διαφορετική τριπλέτα που προέκυψε κωδικοποιεί το ίδιο αμινοξύ (συνώνυμο κωδικόνιο) δεν αλλάζει η ακολουθία αμινοξέων στην παραγόμενη πρωτεΐνη.

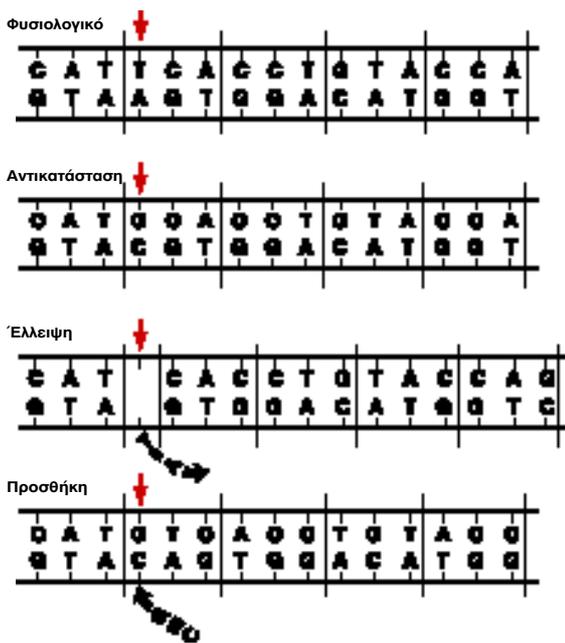
Στις περισσότερες όμως περιπτώσεις μια σημειακή μετάλλαξη δημιουργεί μια τριπλέτα που κωδικοποιεί ένα

### Όταν το γονίδιο «μεγαλώνει» από γενιά σε γενιά

Ενας τύπος μετάλλαξης που ανακαλύφθηκε πρόσφατα είναι η τρινουκλεοτιδική επέκταση, κατά την οποία αυξάνεται ο αριθμός των επαναλήψεων μίας συγκεκριμένης τριπλέτας νουκλεοτιδίων από γενιά σε γενιά. Η τρινουκλεοτιδική επέκταση είναι το αίτιο της μυοτονικής δυστροφίας, μιας αυτοσωμικής επικρατούς μορφής μυϊκής δυστροφίας η οποία εμφανίζεται με σοβαρότερα συμπτώματα από τη μια γενιά στην επόμενη. Για παράδειγμα, ο παππούς μπορεί να εμφανίζει μόνο ήπια αδυναμία στα χέρια. Η κόρη μπορεί να έχει μέτρια αδυναμία σε χέρια και πόδια. Τα παιδιά της, εάν κληρονομήσουν το γονίδιο, μπορεί να εμφανίζουν σοβαρή μυϊκή αδυναμία. Για πολλά χρόνια η αιτιολογία αυτού του φαινομένου ήταν άγνωστη. Εντούτοις, μόλις προσδιορίστηκε η αλληλουχία του γονιδίου, αποκαλύφθηκε ότι η επιδείνωση των συμπτωμάτων οφείλεται στην αύξηση του μεγέθους του γονιδίου. Το γονίδιο που δημιουργεί την ασθένεια βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19 και εμφανίζει πολλές επαναλήψεις της τριπλέτας CTG. Ένα φυσιολογικό άτομο έχει 5 έως 37 επαναλήψεις της τριπλέτας, ενώ ένα άτομο που πάσχει εμφανίζει από 50 έως και χιλιάδες επαναλήψεις.

Το σύνδρομο εύθραυστου X είναι η δεύτερη σε συχνότητα, μετά το σύνδρομο Down, αιτία διανοητικής καθυστέρησης που σχετίζεται με γενετική ανωμαλία. Η ονομασία του οφείλεται στην θραύση, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, μικρού τμήματος του χρωμοσώματος X στους πάσχοντες. Ανάλυση του DNA έδειξε ότι το σύνδρομο του εύθραυστου X οφείλεται στο μεγάλο αριθμό επαναλήψεων της τριπλέτας CGG στην αλληλουχία βάσεων του DNA σε ένα συγκεκριμένο γονίδιο (EMR1) του χρωμοσώματος X. Τα φυσιολογικά άτομα έχουν κατά μέσο όρο 30 επαναλήψεις της συγκεκριμένης τριπλέτας. Οι επαναλήψεις της τριπλέτας CGG στα άτομα που πάσχουν ξεκινούν από 200 και ξεπερνούν σε μερικές περιπτώσεις τις 1.300. Τα άτομα που πάσχουν έχουν κληρονομήσει το γονίδιο σε «λανθάνουσα μορφή», δηλαδή από άτομα που δεν πάσχουν αλλά φέρουν 50-200 επαναλήψεις της τριπλέτας CGG στο γονίδιο (προμετάλλαξη). Ο αριθμός των επαναλήψεων της τριπλέτας σε οικογένειες που φέρουν τη μετάλλαξη σε λανθάνουσα μορφή αυξάνεται από γενιά σε γενιά.





Εικόνα 6.2. Οι κύριες κατηγορίες γονιδιακών μεταλλάξεων. Στην έλλειψη και την προσθήκη αλλάζει το πλαίσιο ανάγνωσης.

διαφορετικό αμινοξύ και κατά συνέπεια μια αλλαγμένη πρωτεΐνη. Εάν το διαφορετικό αμινοξύ βρίσκεται στο ενεργό κέντρο ενός ενζύμου ή κοντά σε αυτό, τότε η ενεργότητά του, δηλαδή η ικανότητα κατάλυσης αντιδράσεων, μπορεί να ελαττωθεί ή και να μηδενισθεί. Επίσης, σε άλλα είδη πρωτεϊνών η μετάλλαξη μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγή της δομής τους και συνεπώς και της λειτουργίας τους, όπως στην περίπτωση της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας. Σε ελάχιστες περιπτώσεις μια σημειακή μετάλλαξη μπορεί να μετατρέψει ένα κωδικόνιο, που κωδικοποιεί κάποιο αμινοξύ, σε ένα κωδικόνιο λήξης, με αποτέλεσμα τον τερματισμό της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Στις περισσότερες από αυτές τις περιπτώσεις καταστρέφεται η λειτουργικότητα της πρωτεΐνης.

Ένας άλλος σημαντικός τύπος γονιδιακών μεταλλάξεων περιλαμβάνει **προσθήκη ή έλλειψη βάσεων** (Εικόνα 6.2). Αλλαγές στον αριθμό των βάσεων έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μεταλλαγμένων φαινοτύπων. Η προσθήκη ή η έλλειψη διαδοχικών βάσεων σε οποιοδήποτε αριθμό πολλαπλάσιο του τρία δημιουργεί, αντίστοιχα, προσθήκη ή έλλειψη ενός ή περισσότερων αμινοξέων στην πολυπεπτιδική αλυσίδα, που μπορεί να αλλάξει τη λειτουργικότητά της. Αν όμως ο αριθμός των βάσεων είναι διαφορετικός του τρία ή πολλαπλασίων του, τότε διαταράσσεται το πλαίσιο ανάγνωσης των τριπλετών. Συνεπώς η αλληλουχία των αμινοξέων δεν εμφανίζει πλέον πολλές ομοιότητες με την αρχική. Μια τέτοιου τύπου μετάλλαξη σε ένα γονίδιο που κωδικοποιεί ένα ένζυμο συνήθως οδηγεί σε απώλεια της ενεργότητάς του.

### Σκεφθείτε

Τι θα δημιουργήσει μεγαλύτερο πρόβλημα στον οργανισμό: Η έλλειψη μιας βάσης, ή τριών συνεχόμενων βάσεων;

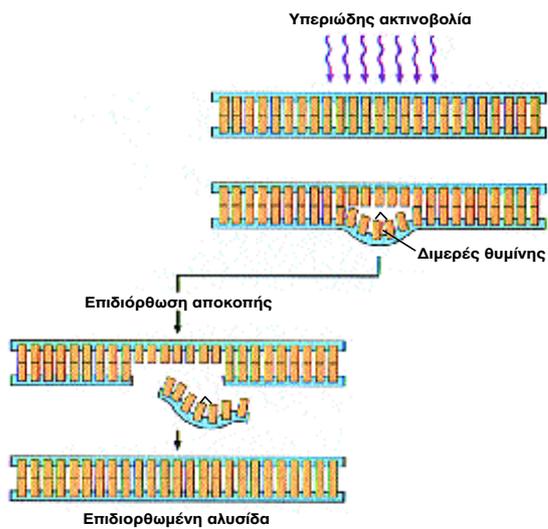
### Οι μεταλλάξεις δεν είναι πάντοτε βλαβερές

Μολονότι οι περισσότερες μεταλλάξεις οδηγούν σε αποτέλεσμα που δεν είναι ευνοϊκό για τον οργανισμό, μερικές από αυτές εμφανίζουν πλεονεκτήματα. Χωρίς τις μεταλλάξεις η γενετική ποικιλότητα θα περιοριζόταν αρκετά και η εξέλιξη, όπως τη γνωρίζουμε σήμερα, δε θα είχε συμβεί.

Οι περισσότερες από τις μεταλλάξεις θεωρούνται επιβλαβείς, επειδή έχουν σοβαρή επίπτωση στον οργανισμό. Πολλές όμως δεν είναι επιβλαβείς και χαρακτηρίζονται ως ουδέτερες. Για παράδειγμα, μεταλλάξεις που οδηγούν σε αλλαγή ενός μόνο αμινοξέως μπορεί να έχουν ελάχιστη επίδραση στη στερεοδιάταξη και στη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης. Οι αλλαγές που συμβαίνουν σ' ένα γονίδιο και δεν οδηγούν σε αλλαγή της αλληλουχίας των αμινοξέων της δημιουργούμενης πρωτεΐνης, λόγω εκφυλισμού του γενετικού κώδικα, ονομάζονται **σιωπηλές μεταλλάξεις**. Αλλαγές στην αλληλουχία των βάσεων παρατηρούνται όχι μόνο σε περιοχές του DNA που κωδικοποιούν πρωτεΐνες αλλά και στις υπόλοιπες περιοχές του, οι οποίες αποτελούν και το 95% του γενετικού μας υλικού. Η συχνότητα των αλλαγών σε περιοχές του DNA, εκτός των γονιδίων, είναι δεκαπλάσια σε σχέση με εκείνη που παρουσιάζεται μέσα στα γονίδια. Η διαφορά αυτή δεν πρέπει να προκαλεί έκπληξη γιατί οι κωδικοποιούσες περιοχές βρίσκονται υπό αυστηρή εξελικτική πίεση, και έτσι η συχνότητα μεταλλάξεων σε αυτές τις περιοχές κατά τη διάρκεια της εξέλιξης είναι χαμηλή.

### Ακτινοβολία και μεταλλάξεις

Ο ανθρώπινος πληθυσμός εκτίθεται με πολλούς τρόπους σε ακτινοβολίες π.χ. για ιατρικούς σκοπούς (ακτινοσκόπησεις, ακτινοθεραπεία) ή για επαγγελματικούς λόγους (ερευνητικά ή πυρηνικά εργαστήρια). Επίσης εκτίθεται στην κοσμική ακτινοβολία, που φθάνει στη γη από το διάστημα, και στην ακτινοβολία που εκπέμπουν τα ραδιενεργά κοιτάσματα. Κατά περιόδους εκτίθεται σε μεγάλα ποσά ακτινοβολίας που εκλύονται σε δοκιμές ατομικών βομβών και πυρηνικά ατυχήματα.



Εικόνα 6.3. Ένας από τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA (επιδιόρθωση αποκοπής). Ένα διμερές πυριμιδινών καθώς και οι λίγες βάσεις που βρίσκονται κοντά του απομακρύνονται από τα επιδιορθωτικά ένζυμα και αντικαθίστανται.

## Ποιοι παράγοντες προκαλούν μεταλλάξεις

Οι μεταλλάξεις που εμφανίζονται αιφνίδια μέσα στον πληθυσμό ονομάζονται **αυτόματες** και θεωρείται ότι προέρχονται από λάθη που γίνονται κατά την αντιγραφή του DNA ή κατά τη διαίρεση των χρωμοσωμάτων. Όλες οι μεταλλάξεις δε δημιουργούνται αυτόματα. Πολλοί τύποι μεταλλάξεων μπορεί να προκληθούν από παράγοντες του περιβάλλοντος, που ονομάζονται **μεταλλαξογόνοι**. Σ' αυτούς περιλαμβάνονται διάφορες χημικές ουσίες καθώς και διάφοροι τύποι ιονιζουσών ακτινοβολιών, όπως η Χ και η γ-ακτινοβολία, καθώς και η κοσμική και η υπεριώδης ακτινοβολία.

Μερικές από τις χημικές ουσίες που έχουν μεταλλαξογόνο δράση είναι η φορμαλδεύδη, ορισμένες χρωστι-

κές, αρωματικοί κυκλικοί υδρογονάνθρακες ακόμα και η καφεΐνη. Πολλές από αυτές τις ουσίες βρίσκονται σε γεωργικά, βιομηχανικά και φαρμακευτικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται ευρύτατα. Πώς λοιπόν ένα κύτταρο μπορεί να διατηρήσει σταθερή μια αλληλουχία βάσεων απαραίτητη για τη ζωή υπερπηδώντας αυτές τις βλάβες που δημιουργούνται από τους διάφορους μεταλλαξογόνους παράγοντες; Η απάντηση είναι ότι τα κύτταρα περιέχουν πάρα πολλά ένζυμα, που αναγνωρίζουν την βλάβη και επιδιορθώνουν το DNA (Εικόνα 6.3). Θα μπορούσαμε λοιπόν να παρομοιάσουμε το κύτταρο με ένα αυτοκίνητο, το οποίο ενώ βρίσκεται διαρκώς σε κίνηση διαθέτει μια ομάδα μηχανικών, που επιδιορθώνει όλες τις βλάβες του, αμέσως μόλις προκύψουν και έ-

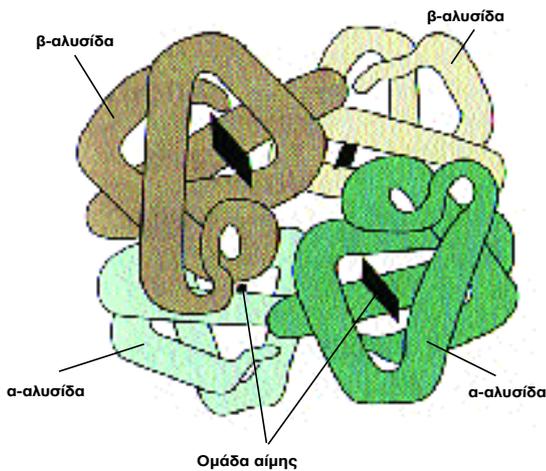
τσι το αυτοκίνητο δε σταματά να λειτουργεί φυσιολογικά. Περισσότερο από 99.9 % των λαθών της αντιγραφής του DNA επιδιορθώνονται με αυτό τον τρόπο.

## Μεγάλος αριθμός ασθενειών στον άνθρωπο είναι αποτέλεσμα μεταλλάξεων

Στη συνέχεια, αναφέρονται μερικές συχνά εμφανιζόμενες ασθένειες του ανθρώπου, που οφείλονται σε μεταλλάξεις. Οι περισσότερες δεν είναι αποτέλεσμα ενός μόνο τύπου μετάλλαξης. Μπορεί να είναι αποτέλεσμα σημειακών μεταλλάξεων, ελλείψεων ή προσθηκών διαφορετικού αριθμού βάσεων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μεγάλη ετερογένεια των συμπτωμάτων ανάμεσα σε άτομα που πάσχουν από την ίδια ασθένεια.

### Η πιο αποτροπιαστική στιγμή στην ιστορία της ανθρωπότητας συνεισφέρει στην επιστημονική έρευνα

Η έκρηξη της ατομικής βόμβας στη Χιροσίμα και το Ναγκασάκι στο τέλος του δεύτερου παγκόσμιου πολέμου, στις 6 και 9 Αυγούστου 1945, έδωσε τη δυνατότητα μελέτης της μεταλλαξογόνου δράσης της ακτινοβολίας. Η έκρηξη αυτή, που σκότωσε 200.000 ανθρώπους σε δευτερόλεπτα, άφησε τα σημάδια της και στις επόμενες γενιές με τη μορφή καρκίνου ή μεταλλάξεων. Η συχνότητα εμφάνισης λευχαιμίας (καρκίνος του αίματος) αυξήθηκε στον πληθυσμό ύστερα από 10 χρόνια, ενώ η συχνότητα εμφάνισης καρκίνου των πνευμόνων ύστερα από 20 χρόνια. Η αύξηση αυτή είναι πιθανά το αποτέλεσμα δράσης της ακτινοβολίας, η οποία αυξάνει τη συχνότητα δημιουργίας μεταλλάξεων στα σωματικά κυττάρα. Οι τελευταίες μπορούν να οδηγήσουν στην εμφάνιση των μορφών καρκίνου που αναφέρθηκαν. Επιπλέον οι ερευνητές υπολόγισαν την αύξηση της συχνότητας μεταλλάξεων σε κάποια γονίδια των κυττάρων του αίματος. Θα χρειαστεί να γίνει μελέτη και σε επόμενες γενιές, για να βρεθεί η επίδραση των υπολειπόμενων μεταλλάξεων, που δημιουργούνται από τη ραδιενεργό ακτινοβολία, εφόσον άτομα φορείς για την ίδια μετάλλαξη θα γεννήσουν παιδιά, κάποια από τα οποία θα είναι ομόζυγα και θα εκφράζουν το φαινότυπο.



Εικόνα 6.4. Το μόριο της αιμοσφαιρίνης, HbA, του ανθρώπου. Αποτελείται από δύο β και δύο α πολυπεπτιδικές αλυσίδες. Στο εσωτερικό του μορίου βρίσκονται τέσσερις ομάδες αίμης.

### Γενετικές διαταραχές στις αιμοσφαιρίνες του ανθρώπου

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια του ανθρώπου περιέχουν κυρίως μια πρωτεΐνη, την αιμοσφαιρίνη. Κάθε μόριο αιμοσφαιρίνης, που έχει σφαιρικό σχήμα στο χώρο, αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες, ανά δύο όμοιες, καθεμιά από τις οποίες περιέχει μια ομάδα αίμης (Εικόνα 6.4). Οι αιμοσφαιρίνες του ενήλικου ατόμου διαφέρουν από τις αντίστοιχες του εμβρύου. Η κύρια αιμοσφαιρίνη κατά την εμβρυϊκή ηλικία είναι η αιμοσφαιρίνη F (HbF) με σύσταση  $\alpha_2\gamma_2$ , δηλαδή αποτελείται από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες α και από δύο γ. Κατά την ενήλικη ζωή η κύρια αιμοσφαιρίνη είναι η HbA με σύσταση  $\alpha_2\beta_2$ , ενώ ανιχνεύονται και μικρές ποσότητες μιας άλλης αιμοσφαιρίνης, της HbA<sub>2</sub>, με σύσταση  $\alpha_2\delta_2$ . Τα ενήλικα άτομα επίσης συνθέτουν πολύ μικρή ποσότητα (λιγότερο από 1%) της HbF.

Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις αλυσίδες των αιμοσφαιρινών εμφανίζουν πολλές μεταλλάξεις, που δημιουργούν τις αιμοσφαιρινοπάθειες. Στο γονίδιο της πολυπεπτιδικής αλυσίδας β έχουν βρεθεί περισσότερες από 300 διαφορετικές μεταλλάξεις. Εάν μια μετάλλαξη επηρεάζει αμινοξέα σημαντικά για τη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης, όπως αυτά που βρίσκονται κοντά στην περιοχή πρόσδεσης της αίμης, τότε δημιουργείται σοβαρό πρόβλημα για τον οργανισμό. Υπάρχουν όμως και μεταλλάξεις που περνούν σχεδόν απαρατήρητες ή που δημιουργούν μόνον ήπια αναιμία. Τέτοιες είναι οι μεταλλάξεις που αφορούν περιοχή της αλυσίδας που δεν είναι σημαντική για τη λειτουργία του μορίου.

Μια από τις σοβαρότερες αιμοσφαιρινοπάθειες είναι η

θαλασσαιμία, που οφείλεται σε ελαττωμένη σύνθεση είτε των α είτε των β αλυσίδων και οδηγεί αντίστοιχα σε α- ή β-θαλασσαιμία. Η **β-θαλασσαιμία** χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια. Προκαλείται από πολλά διαφορετικά είδη γονιδιακών μεταλλάξεων όπως σημειακές μεταλλάξεις, ελλείψεις και προσθήκες βάσεων. Τα συμπτώματα της ασθένειας διαφέρουν ως προς τη βαρύτητα μεταξύ διαφόρων ατόμων και σχετίζονται με το είδος της μετάλλαξης που τα προκαλεί. Τα συμπτώματα μπορεί να κυμαίνονται από σοβαρή αναιμία (παντελής έλλειψη πολυπεπτιδικής αλυσίδας β, συνεπώς και HbA) έως λιγότερο σοβαρή αναιμία (ελάττωση σύνθεσης πολυπεπτιδικής αλυσίδας β, συνεπώς σύνθεση HbA σε πολύ μικρή ποσότητα).

Τα ομόζυγα άτομα με β-θαλασσαιμία εμφανίζουν σοβαρή αναιμία. Η αντιμετώπιση γίνεται με συχνές μεταγγίσεις αίματος, οι οποίες όμως σταδιακά δημιουργούν πρόβλημα λόγω της υπερφόρτωσης του οργανισμού με σίδηρο. Το πρόβλημα αυτό αντιμετωπίζεται με φαρμακευτική αγωγή (αποσιδήρωση). Στα ομόζυγα άτομα παρατηρείται σε πολλές περιπτώσεις αύξηση της HbF, η οποία υποκαθιστά μερικώς τη λειτουργία της HbA. Τα ετερόζυγα άτομα φορείς- εμφανίζουν ήπια αναιμία και αυξημένη σύνθεση HbA<sub>2</sub>, η οποία αποτελεί διαγνωστικό δείκτη. Η ασθένεια κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Συνεπώς, όταν και οι δύο γονείς είναι φορείς της ασθένειας, ο κίνδυνος εμφάνισης της β-θαλασσαιμίας στους απογόνους τους είναι 25%.

Η συχνότητα των ετερόζυγων ατόμων με δρεπανοκυτταρική αναιμία και β-θαλασσαιμία είναι αυξημένη σε περιοχές όπως οι χώρες της Μεσογείου, της Δυτικής και Ανατολικής Αφρικής και της Ν. Α. Ασίας, όπου εμφανιζόταν ελονοσία. Η αυξημένη συχνότητα οφείλεται στην ανθεκτικότητα των φορέων στην προσβολή από το πρωτόζωο που προκαλεί την ελονοσία, επειδή τα ερυθροκύτταρά τους δεν ευνοούν τον πολλαπλασιασμό του. Συνεπώς, η προστασία που προσδίδει η μετάλλαξη ως προς την ελονοσία αποτελεί ένα πλεονέκτημα, που τους παρέχει αυξημένη πιθανότητα επιβίωσης και δυνατότητα αναπαραγωγής.

Τα γονίδια που κωδικοποιούν την α- πολυπεπτιδική αλυσίδα είναι διπλά δηλαδή υπάρχουν δύο γονίδια α σε κάθε ομόλογο χρωμόσωμα. Η **α-θαλασσαιμία** είναι αποτέλεσμα, σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, ελλείψεων ολόκληρου του γονιδίου που κωδικοποιεί την πολυπεπτιδική αλυσίδα α. Εφόσον σε κάθε άτομο υπάρχουν συνολικά τέσσερα γονίδια α, ελλείψεις μπορεί να δημιουργηθούν σε ένα, δύο, τρία, ή και στα τέσσερα από αυτά τα γονίδια. Όσο περισσότερα γονίδια α λείπουν τόσο βαρύτερα είναι τα συμπτώματα της ασθένειας. Η έλλειψη των γονιδίων α επηρεάζει όλες τις αιμοσφαιρίνες του ανθρώπου, επειδή η πολυπεπτιδική αλυσίδα α αποτελεί συστατικό όλων των αιμοσφαιρινών.

## Μειωμένες σε γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα δημιουργούν τις διαταραχές του μεταβολισμού

Οι μεταβολικές οδοί στον άνθρωπο ακολουθούν ορισμένα στάδια, καθένα από τα οποία ελέγχεται από κάποιο ένζυμο. Έχουν περιγραφεί περίπου 200 διαταραχές του μεταβολισμού, οι οποίες αφορούν κυρίως τη λειτουργικότητα ενζύμων. Η δημιουργία μεταλλάξεων σε γονίδια που κωδικοποιούν κάποια από αυτά τα ένζυμα προκαλεί διάφορες κληρονομικές ασθένειες όπως η φαινυλκετονουρία και ο αλφισμός, οι οποίες κληρονομούνται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας.

### Ταξίδι στο χρόνο

Το **1956** οι Levan και Tjio βρίσκουν ότι τα διπλοειδή κύτταρα στον άνθρωπο περιέχουν 46 χρωμοσώματα.

Το **1956** οι Hamerton και Ford βρίσκουν ότι οι γαμέτες στον άνθρωπο περιέχουν 23 χρωμοσώματα.

Το **1959** ο Lejeune περιγράφει την πρώτη χρωμοσωμική ανωμαλία το σύνδρομο Down.

Η **φαινυλκετονουρία** (PKU=Phenyl Keton Urea) είναι μία ασθένεια η οποία προκαλείται από την έλλειψη του ενζύμου που στα φυσιολογικά άτομα μετατρέπει το αμινοξύ φαινυλαλανίνη σε τυροσίνη (Εικόνα 6.5), με αποτέλεσμα τη συσσώρευση φαινυλαλανίνης. Στα άτομα που είναι ομόζυγα για το υπολειπόμενο μεταλλαγμένο γονίδιο παρεμποδίζεται η φυσιολογική ανάπτυξη και λειτουργία των κυττάρων του εγκεφάλου, με συνέπεια τη διανοητική καθυστέρηση. Εάν η ασθένεια ανιχνευθεί νωρίς, κατά τη νεογνική ηλικία, τότε η εμφάνιση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με αυτήν μπορεί να αποφευχθεί με τη χρησιμοποίηση, εφ' όρου ζωής, κατάλληλου διατροφολογίου με περιορισμένη ποσότητα φαινυλαλανίνης.

Ο **αλφισμός** οφείλεται στην έλλειψη ενός ενζύμου, το οποίο είναι απαραίτητο για το σχηματισμό της χρωστικής

μελανίνης. Στα άτομα που πάσχουν από αλφισμό υπάρχει έλλειψη της χρωστικής στο δέρμα, στα μαλλιά και στην ίριδα του οφθαλμού. Ο αλφισμός εμφανίζει ετερογένεια, δηλαδή άλλα άτομα εμφανίζουν παντελή έλλειψη ενεργότητας του ενζύμου, ενώ άλλα εμφανίζουν μειωμένη ενεργότητα.

### Αυτόματες αποβολές και χρωμοσωμικές μεταλλάξεις

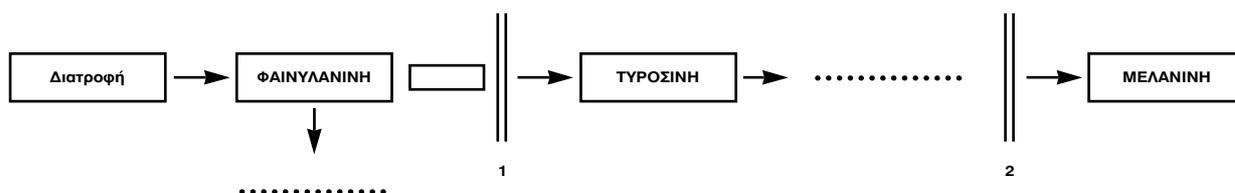
Αυτόματη αποβολή είναι η διακοπή της κύησης πριν από την εικοστή τέταρτη εβδομάδα. Οι περισσότερες αποβολές, περίπου το 75%, συμβαίνουν πριν από την 16η εβδομάδα και παρατηρούνται στο 12% των κυήσεων.

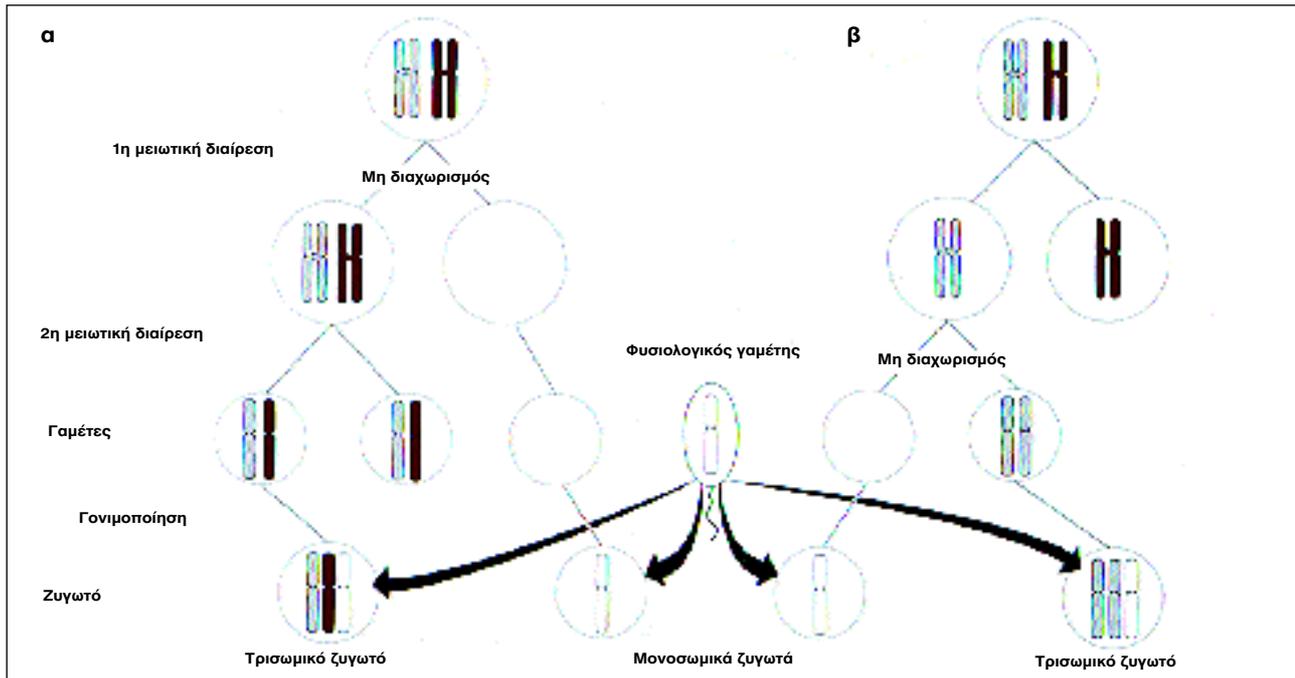
Μελέτες απέδειξαν ότι στο 50% των αποβολών τα έμβρυα έχουν χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Από αυτές σε μεγαλύτερη συχνότητα εμφανίζονται οι τρισωμίες. Είναι φανερό ότι η αυθόρμητη αποβολή του εμβρύου λειτουργεί σαν είδος «αμυντικού μηχανισμού», ο οποίος αποτρέπει τη γέννηση παιδιού που φέρει σημαντικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες.

## Χρωμοσωμικές ανωμαλίες

Όπως έχουμε ήδη αναφέρει, οι μεταλλάξεις είναι αλλαγές στην ακολουθία και στον αριθμό των βάσεων στο γονιδίωμα ενός οργανισμού. Οι μεγάλες σε έκταση αλλαγές αποτελούν τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Η ανάλυση των χρωμοσωμικών ανωμαλιών έγινε δυνατή μετά την ανάπτυξη τεχνικών που επιτρέπουν την παρατήρηση και τη λεπτομερή μελέτη των χρωμοσωμάτων. Οι αλλαγές στον αριθμό των χρωμοσωμάτων ονομάζονται **αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες**, ενώ οι αλλαγές στη δομή αποτελούν τις **δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες**. Οι αλλαγές αυτές έχουν συνήθως ως αποτέλεσμα την τροποποίηση του φαινοτύπου του ατόμου.

Εικόνα 6.5. Διάγραμμα στο οποίο φαίνονται, τα σημεία όπου υπάρχει, «εμπόδιο» και διακόπτει το μεταβολισμό της φαινυλαλανίνης στην φαινυλκετονουρία (1) και στον αλφισμό (2). Το εμπόδιο δημιουργείται από έλλειψη των αντιστοίχων ενζύμων.



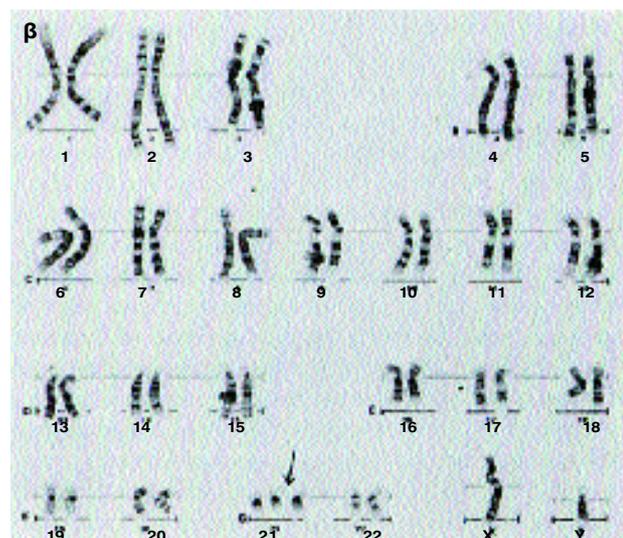


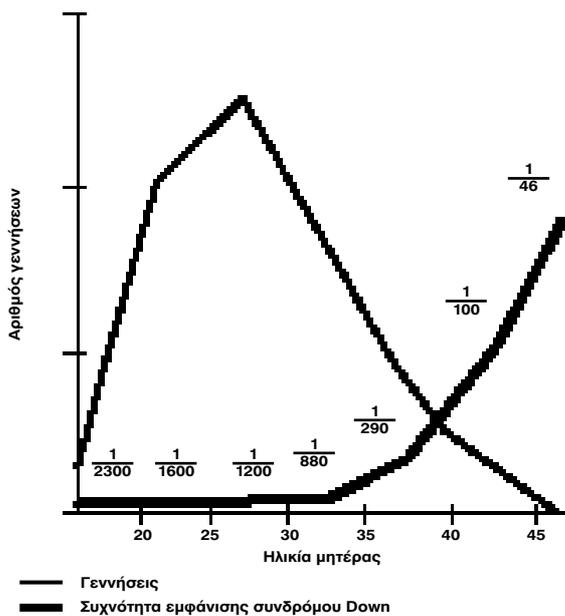
Εικόνα 6.6. Μη διαχωρισμός χρωμοσωμάτων α. κατά τη διάρκεια της 1ης και β. κατά τη διάρκεια της 2ης μειωτικής διαίρεσης. Γονιμοποίηση των γαμετών που προκύπτουν με φυσιολογικό γαμέτη έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ζυγωτών με μη φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων.

**Οι αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι αποτέλεσμα λαθών στην μειωτική διαίρεση**

Αν κατά τη διάρκεια της μειωτικής διαίρεσης δεν πραγματοποιηθεί φυσιολογικά ο διαχωρισμός των ομόλογων χρωμοσωμάτων, ένα φαινόμενο που ονομάζεται **μη-διαχωρισμός**, τότε δημιουργούνται γαμέτες με αριθμό χρωμοσωμάτων μεγαλύτερο ή μικρότερο του φυσιολογικού. Η γονιμοποίηση των μη φυσιολογικών γαμετών, έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ζυγωτού με “λανθασμένη” ποσότητα γενετικού υλικού, το οποίο δεν αναπτύσσει-

Εικόνα 6.7. Τα περισσότερα άτομα με σύνδρομο Down έχουν τρία αντίγραφα του χρωμοσώματος 21.  
 α. Άτομο με σύνδρομο Down που συμμετέχει στους Special Olympics.  
 β. Καρυότυπος αρσενικού ατόμου με σύνδρομο Down.





Εικόνα 6.8. Η συχνότητα εμφάνισης του συνδρόμου Down σχετίζεται με την ηλικία της μητέρας.

ται φυσιολογικά (Εικόνα 6.6). Τα άτομα που προκύπτουν και έχουν περίσσεια ή έλλειψη μικρού αριθμού χρωμοσωμάτων ονομάζονται **ανευπλοειδή**. Η απουσία ενός μόνο χρωμοσώματος ονομάζεται **μονοσωμία**, ενώ η ύπαρξη ενός επιπλέον **τρισωμία**. Η μονοσωμία είναι συνήθως θανατηφόρος για τον οργανισμό, διότι τα χρωμοσώματα με τα γονίδια που περιέχουν, με εξαίρεση τα φυλετικά, πρέπει να υπάρχουν σε δύο "δόσεις", για να εξασφαλιστεί η σωστή ανάπτυξη του ζυγωτού.

Οι αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες δημιουργούνται στα αυτοσωμικά ή στα φυλετικά χρωμοσώματα. Στη συνέχεια αναφέρονται οι συχνότερα εμφανιζόμενες περιπτώσεις στον άνθρωπο.

Το **σύνδρομο Down** (Τρισωμία 21) είναι η πιο κοινή αριθμητική χρωμοσωμική ανωμαλία με συχνότητα εμφάνισης

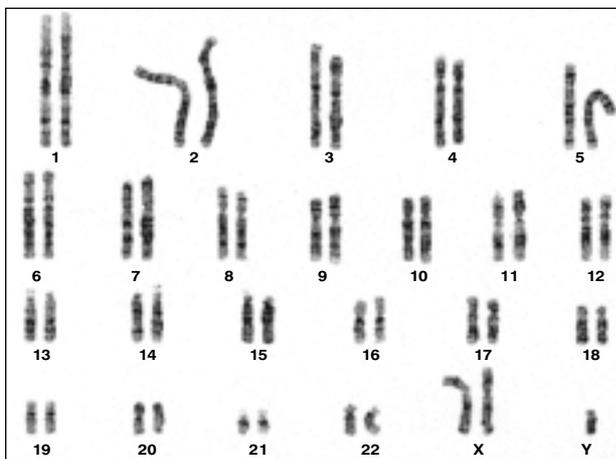
περίπου 1 στις 900 γεννήσεις. Τα άτομα με σύνδρομο Down εμφανίζουν καθυστέρηση στην ανάπτυξη, χαρακτηριστικές δυσμορφίες στο πρόσωπο και διανοητική καθυστέρηση. Στον καρυότυπο των ατόμων που πάσχουν, σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις, εμφανίζεται ένα επιπλέον χρωμόσωμα 21 (Εικόνα 6.7). Η ύπαρξη του επιπλέον χρωμοσώματος είναι αποτέλεσμα μη διαχωρισμού των χρωμοσωμάτων του 21ου ζεύγους κατά την μείωση. Με αυτό τον τρόπο δημιουργείται ωάριο, και σε σχετικά λιγότερες περιπτώσεις σπερματοζώαριο, με δύο χρωμοσώματα 21. Γονιμοποίηση του γαμέτη που έχει το επιπλέον χρωμόσωμα 21 με έναν φυσιολογικό θα δημιουργήσει τρισωμία 21. Η πιθανότητα γέννησης παιδιού με σύνδρομο Down σχετίζεται με την ηλικία της μητέρας. Μελέτες δείχνουν ότι μία μέλλουσα μητέρα ηλικίας 45 ετών έχει πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα να αποκτήσει παιδί με σύνδρομο Down σε σχέση με μια μέλλουσα μητέρα ηλικίας 19 ετών (Εικόνα 6.8).

Άλλες σχετικά συχνές αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες που αφορούν τα αυτοσωμικά χρωμοσώματα είναι η **τρισωμία 13** και η **τρισωμία 18**. Τα άτομα που πάσχουν από αυτές εμφανίζουν βαρύτερα συμπτώματα από εκείνα που πάσχουν από σύνδρομο Down, πιθανόν επειδή τα χρωμοσώματα 13 και 18 είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος και περιέχουν περισσότερα γονίδια.

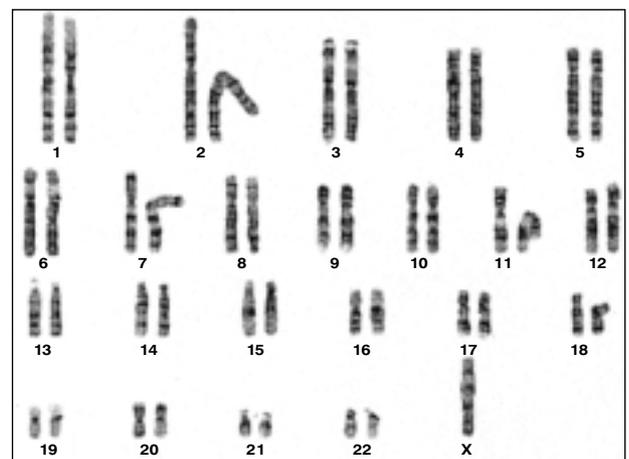
Εκτός από αριθμητικές ανωμαλίες που αφορούν τα αυτοσωμικά χρωμοσώματα παρατηρούνται αριθμητικές ανωμαλίες και στα φυλετικά χρωμοσώματα.

Το **σύνδρομο Klinefelter** οφείλεται στην ύπαρξη ενός επιπλέον φυλετικού χρωμοσώματος, συγκεκριμένα του X στα XY άτομα. Τα άτομα με σύνδρομο Klinefelter έχουν φυσιολογικό αριθμό αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων (44) και τρία φυλετικά χρωμοσώματα, τα XXY, αντί του φυσιολογικού ζεύγους XY (Εικόνα 6.9). Τα άτομα αυτά έχουν εξωτερικά χαρακτηριστικά αρσενικού ατόμου είναι όμως στείρα. Τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου εμφανίζονται μετά την εφηβεία. Εμφανίζεται με συχνότητα περίπου 1 στις 1.000 γεννήσεις.

Εικόνα 6.9. Καρυότυπος ατόμου που πάσχει από σύνδρομο Klinefelter.



Εικόνα 6.10 Καρυότυπος ατόμου που πάσχει από σύνδρομο Turner.



Άλλο χαρακτηριστικό σύνδρομο που σχετίζεται με τα φυλετικά χρωμοσώματα είναι το σύνδρομο Turner. Τα άτομα που πάσχουν από το **σύνδρομο Turner** έχουν φυσιολογικό αριθμό αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων (44) αλλά μόνο ένα χρωμόσωμα X από το ζεύγος των φυλετικών χρωμοσωμάτων (XO) (Εικόνα 6.10). Αυτή είναι η μοναδική μονοσωμία που έχει βρεθεί στον άνθρωπο. Τα άτομα αυτά δεν εμφανίζουν δευτερογενή χαρακτηριστικά του φύλου παρ' όλο που έχουν φαινότυπο θηλυκού ατόμου και είναι στειρά.

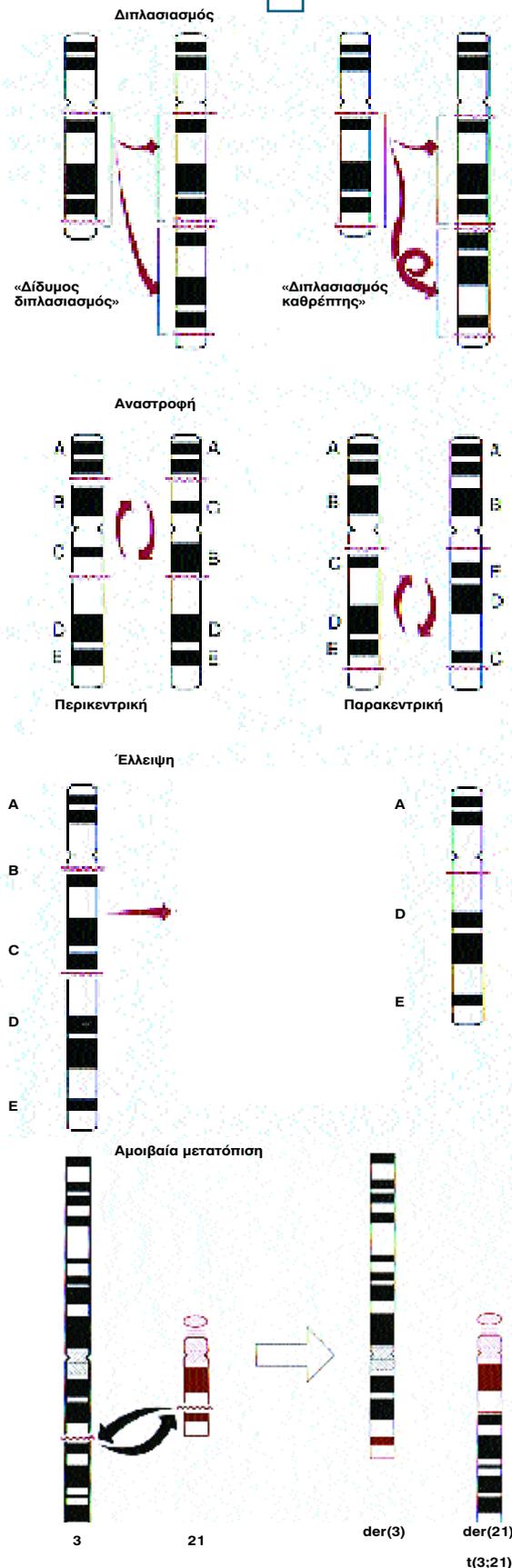
### Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες αλλάζουν την μορφολογία των χρωμοσωμάτων

Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι αλλαγές στη δομή ενός ή περισσότερων χρωμοσωμάτων. Οι δομικές αλλαγές στο χρωμόσωμα μπορεί να αφορούν, μερικά γονίδια ή ένα μεγάλο τμήμα του χρωμοσώματος. Η δημιουργία δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών είναι αποτέλεσμα διάφορων μηχανισμών κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου. Για παράδειγμα, η θραύση τμήματος από ένα ή περισσότερα χρωμοσώματα και στη συνέχεια η λανθασμένη επανένωσή του μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα έλλειψη, μετατόπιση ή κάποια άλλη χρωμοσωμική αναδιάταξη.

Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες έχουν ως αποτέλεσμα την αλλαγή στην ποσότητα ή στη διάταξη της γενετικής πληροφορίας στα χρωμοσώματα. Ανάλογα με το τύπο της αλλαγής διακρίνονται διάφορα είδη δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών (Εικόνα 6.11).

Η **έλλειψη** είναι η απώλεια γενετικού υλικού. Το **σύνδρομο φωνή της γάτας (cri-du-chat)** οφείλεται στην έλλειψη ενός μεγάλου τμήματος του μικρού βραχίονα από το χρωμόσωμα 5. Το σύνδρομο ονομάζεται έτσι, γιατί το κλάμα των νεογέννητων που πάσχουν μοιάζει με το κλάμα της γάτας (cri-du-chat). Τα άτομα που πάσχουν από το συγκεκριμένο σύνδρομο εμφανίζουν διανοητική καθυστέρηση.

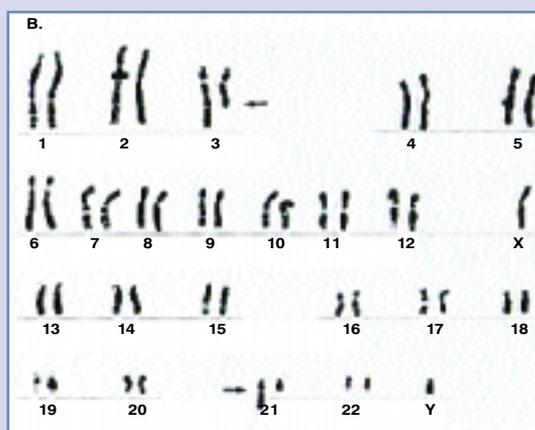
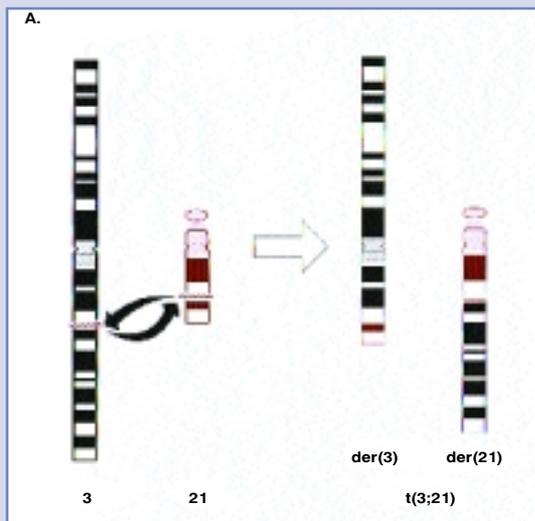
Ο **διπλασιασμός** είναι η επανάληψη ενός χρωμοσωμικού τμήματος στο χρωμόσωμα. Η **αναστροφή** δημιουργείται από θραύσεις σε δύο διαφορετικά σημεία ενός χρωμοσώματος και σε συνέχεια από επανένωση του τμήματος ύστερα από αναστροφή. Η αναστροφή έχει ως συνέπεια την αλλαγή της διάταξης των γονιδίων στο χρωμόσωμα. Τέλος, η **μετατόπιση** είναι αποτέλεσμα θραύσης ενός τμήματος του χρωμοσώματος και στη συνέχεια ένωσής του σε ένα άλλο μη-ομόλογο χρωμόσωμα. Στις αμοιβαίες μετατοπίσεις έχουμε "ανταλλαγή" χρωμοσωμικών τμημάτων ανάμεσα σε μη ομόλογα χρωμοσώματα. Στις αμοιβαίες μετατοπίσεις δε χάνεται γενετικό υλικό και τα άτομα που τις φέρουν εμφανίζουν συνήθως φυσιολογικό φαινότυπο. Ταυτόχρονα όμως εμφανίζουν κίνδυνο απόκτησης απογόνων με χρωμοσωμικές ανωμαλίες, επειδή κατά το ζευγάρωμα των χρωμοσωμάτων στη μειωτική διαίρεση



Εικόνα 6.11 Είδη δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών.

### Άτομα με σύνδρομο Down και «φυσιολογικό» αριθμό χρωμοσωμάτων

Έχει υπολογιστεί ότι το 4% περίπου των ατόμων που εμφανίζουν τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου Down έχουν φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων δηλαδή 46. Η εμφάνιση των χαρακτηριστικών του συνδρόμου Down οφείλεται στην παρουσία « τριών περίπου » αντιγράφων του χρωμοσώματος 21. Τα δύο αντίγραφα στον καρυότυπο αποτελούν το φυσιολογικό ζεύγος των χρωμοσωμάτων. Το επιπλέον αντίγραφο, που είναι συνήθως ο μεγάλος βραχίονας του χρωμοσώματος 21, είναι αποτέλεσμα μετατόπισης κάποιου άλλου χρωμόσωμα (στις περισσότερες περιπτώσεις στο χρωμόσωμα 14). Τα επιπλέον αντίγραφα των γονιδίων, που εντοπίζονται στο μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος 21, φαίνεται να ευθύνονται για την εμφάνιση των συμπτωμάτων της συγκεκριμένης ασθένειας.



προκύπτουν και μη-φυσιολογικοί γαμέτες. Για τη διαπίστωση των δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών είναι απαραίτητη η χρώση των χρωμοσωμάτων με τεχνικές που δημιουργούν ζώνες στο χρωμόσωμα όπως ζώνες Giemsa.

### Τα επιτεύγματα της έρευνας στην Γενεϊκή συνεισφέρουν στην ανάπτυξη μεθόδων για την διάγνωση των γενεϊκών ασθενειών

Οι γνώσεις που έχουμε αποκτήσει σε μοριακό επίπεδο για τους μηχανισμούς που δημιουργούν τις γενεϊκές ασθένειες μας έχουν προσφέρει τη δυνατότητα ανάπτυξης μεθόδων με τις οποίες ανιχνεύουμε γενεϊκές ανωμαλίες στα μέλη μίας οικογένειας ή στα άτομα ενός πληθυσμού. Η διάγνωση των γενεϊκών ασθενειών μας βοηθά:

- Στον όσο το δυνατόν πιο έγκαιρο εντοπισμό γενεϊκών ανωμαλιών στα άτομα που εξετάζονται,
- Στον εντοπισμό των φορέων κληρονομικών γενεϊκών ασθενειών,
- Στον προσδιορισμό της πιθανότητας εμφάνισης μιας γενεϊκής ασθένειας στους απογόνους μιας οικογένειας στην οποία έχει παρουσιαστεί μια κληρονομική ασθένεια.

Η έγκαιρη διάγνωση μιας γενεϊκής ασθένειας προσφέρει τη δυνατότητα σχεδιασμού θεραπευτικής αγωγής, έτσι που να ελαχιστοποιούνται οι επιπλοκές της ασθένειας όπως στην περίπτωση της φαινυλκετονουρίας (PKU). Ο έλεγχος για τον εντοπισμό των πιθανών φορέων, όπως στις περιπτώσεις της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας και των θαλασσαιμιών, πραγματοποιείται με σκοπό τον υπολογισμό της πιθανότητας δημιουργίας απογόνων που πάσχουν από τις συγκεκριμένες κληρονομικές ασθένειες. Ακόμα, στην περίπτωση διάγνωσης γενεϊκών ανωμαλιών κατά τη διενέργεια του προγεννητικού ελέγχου δίνεται η δυνατότητα διακοπής της κύησης.

Η διάγνωση των γενεϊκών ασθενειών μπορεί να πραγματοποιηθεί (Πίνακας 6.1).

- Με τη μελέτη του καρυότυπου, όπως για παράδειγμα κατά τον προγεννητικό έλεγχο,
- Με διάφορες βιοχημικές δοκιμασίες
- Με την ανάλυση της αλληλουχίας των βάσεων του DNA (μοριακή διάγνωση).

Στη συνέχεια αναφέρονται δύο περιπτώσεις εφαρμογής της παραπάνω μεθοδολογίας για τη διάγνωση της φαινυλκετονουρίας και της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας.

Η εφαρμογή προγράμματος ελέγχου των νεογνών για την φαινυλκετονουρία έχει μειώσει σημαντικά τις περιπτώσεις διανοητικής καθυστέρησης από αυτή την ασθένεια. Ο έλεγχος για τη φαινυλκετονουρία πραγματοποιείται με τον υπολογισμό της συγκέντρωσης της φαινυλαλαίνης στο αίμα των νεογνώντων.

Η δρεπανοκυτταρική αναιμία είναι μία από τις λίγες

γενετικές ασθένειες της οποίας ο μηχανισμός δημιουργίας έχει μελετηθεί διεξοδικά. Αυτό μας δίνει τη δυνατότητα διάγνωσης της ασθένειας με τη χρησιμοποίηση πολλών διαφορετικών τεχνικών. Μια από αυτές είναι η παρατήρηση της μορφολογίας των ερυθρών κυττάρων σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου. Στην περίπτωση όπου το άτομο πάσχει, τα ερυθροκύτταρά του παίρνουν δρεπανοειδές σχήμα (δοκιμασία δρεπάνωσης). Για τη διάγνωση της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας χρησιμοποιούνται επίσης τεχνικές που επιτρέπουν τον προσδιορισμό της αιμοσφαιρίνης HbS στα ερυθροκύτταρα όπως και τον εντοπισμό του μεταλλαγμένου γονιδίου β<sup>s</sup>.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.1: Γενετικές ασθένειες και μέθοδοι με τις οποίες πραγματοποιείται η διάγνωση.**

Γενετική ασθένεια	Μέθοδος
Σύνδρομο Down (τρισωμία 21)	Ανάλυση καρυοτύπου
Σύνδρομο Klinefelter	Ανάλυση καρυοτύπου
Σύνδρομο Turner	Ανάλυση καρυοτύπου
Σύνδρομο Patau	Ανάλυση καρυοτύπου
Σύνδρομο Edwards	Ανάλυση καρυοτύπου
Ρετινοβλάστωμα (13q 14.2)	Ανάλυση καρυοτύπου
Φαινυλκετονουρία	Μέτρηση ενεργότητας ενζύμου
Κυστική ίνωση	Ανάλυση DNA (PCR)
Έλλειψη α1-αντιθρυψίνης	Ανάλυση DNA (PCR)
Αιμοροφιλία Α	Ανάλυση DNA (PCR)
Αιμοροφιλία Β	Ανάλυση DNA (PCR)
Δρεπανοκυτταρική αναιμία	Ανάλυση DNA (PCR)
β-θαλασσαιμία	Ανάλυση DNA (PCR)
α-θαλασσαιμία	Ανάλυση DNA (PCR)

## Η γενετική καθοδήγηση μειώνει τις πιθανότητες απόκτησης απογόνων με γενετικές ανωμαλίες

Η γενετική καθοδήγηση είναι μία διαδικασία κατά την οποία ειδικοί επιστήμονες δίνουν πληροφορίες σε μεμονωμένα άτομα, ζευγάρια και οικογένειες που πάσχουν από κάποια γενετική ασθένεια ή έχουν αυξημένες πιθανότητες να την εμφανίσουν. Οι πληροφορίες αυτές είναι απαραίτητες για τους ενδιαφερόμενους, γιατί τους βοηθούν στη λήψη αποφάσεων, κυρίως σχετικά με την απόκτηση υγιών απογόνων.

Ο ειδικός επιστήμονας είναι σε θέση να συμβουλέψει τους ενδιαφερόμενους, μόνο όταν διαθέτει τα απαραίτητα στοιχεία που του επιτρέπουν να γνωρίζει τη συγκεκριμένη γενετική ασθένεια, τη συχνότητα εμφάνισής της, τον τρόπο με τον οποίο κληρονομείται, τις επιπτώσεις στα άτομα που πάσχουν από αυτή, τους τρόπους αντιμετώπισής της κ.ά. Αν, για παράδειγμα, διαπιστωθεί ότι δύο γονείς είναι ετερόζυγοι για το γονίδιο β<sup>s</sup>, τότε ο σύμβουλος πληροφορεί τους μελλοντικούς γονείς ότι υπάρχει

25% πιθανότητα να αποκτήσουν παιδί που πάσχει από δρεπανοκυτταρική αναιμία.

Αν, όπως στο προηγούμενο παράδειγμα, υπάρχει αυξημένη πιθανότητα το έμβρυο να πάσχει από κάποια ανωμαλία, τότε είναι απαραίτητη η διενέργεια προγεννητικού ελέγχου. Με βάση τα αποτελέσματα του προγεννητικού ελέγχου καλούνται οι γονείς να αποφασίσουν, στην περίπτωση που το έμβρυο πάσχει από σοβαρή γενετική ανωμαλία, τη διακοπή της κύησης.

Η απόφαση για διακοπή ή μη της κύησης επηρεάζεται και από άλλες παραμέτρους, που διαφέρουν από κοινωνία σε κοινωνία και μπορεί να σχετίζονται με τις θρησκευτικές αντιλήψεις, ηθικές παραμέτρους κ.ά.

Παρ'ότι γενετική καθοδήγηση μπορεί να ζητήσουν όλοι οι υποψήφιοι γονείς, υπάρχουν ομάδες ατόμων οι οποίες είναι απαραίτητο να απευθυνθούν σε ειδικούς πριν προχωρήσουν στην απόκτηση απογόνων. Σ' αυτές περιλαμβάνονται:

- Άτομα φορείς γενετικών ασθενειών
- Άτομα με οικογενειακό ιστορικό γενετικών ασθενειών
- Γυναίκες ηλικίας 35 ετών και άνω
- Γυναίκες με πολλαπλές αποβολές.

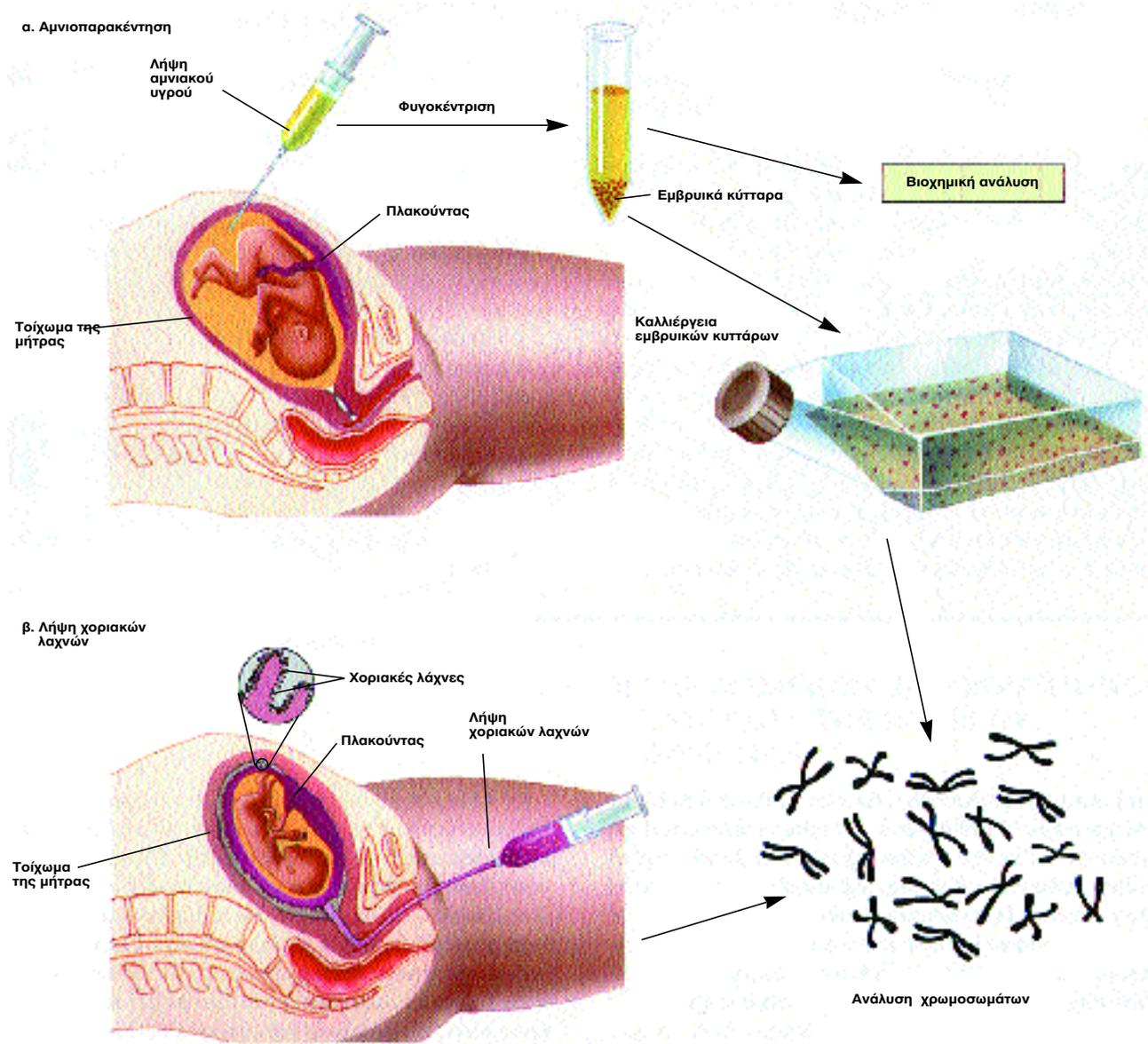
### Σκεφθείτε

Γιατί ποιούς λόγους νομίζετε ότι οι γυναίκες με πολλαπλές αποβολές πρέπει να καταφεύγουν σε γενετική συμβουλή;

## Με τον προγεννητικό έλεγχο μπορούν να εντοπιστούν γενετικές ανωμαλίες στα έμβρυα

Στις περιπτώσεις που υπάρχει αυξημένη πιθανότητα το έμβρυο να εμφανίσει κάποια γενετική ανωμαλία, τότε επιβάλλεται ο προγεννητικός έλεγχος.

Με την αμνιοπαρακέντηση λαμβάνεται από τον αμνιακό σάκο, με τη βοήθεια βελόνας, μικρή ποσότητα αμνιακού υγρού. Μέσα σε αυτό βρίσκονται εμβρυϊκά κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάλυση DNA και την βιοχημική ανάλυση ορισμένων πρωτεϊνών και ενζύμων όπως στην περίπτωση της φαινυλκετονουρίας. Επίσης, ύστερα από καλλιέργεια τα εμβρυϊκά αυτά κύτταρα χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση χρωμοσωμικών ανωμαλιών, με μελέτη του καρυοτύπου (Εικόνα 6.12). Η αμνιοπαρακέντηση πραγματοποιείται από την 11-20 εβδομάδα της κύησης και αποτελεί έναν ασφαλή και αξιόπιστο τρόπο διάγνωσης των γενετικών ανωμαλιών (με αμνιοπαρακέντηση μπορεί να ελεγχθεί η ύπαρξη περισσώτερων από 100 γενετικών ανωμαλιών (Πίνακας 6.1).



**Εικόνα 6.12 Προγεννητικός έλεγχος:**  
 α. με τη λήψη αμνιακού υγρού ή β. χοριακών λαχνών.

Εναλλακτική μέθοδος προγεννητικού ελέγχου είναι η λήψη χοριακών λαχνών. Πραγματοποιείται συνήθως την 9-12 εβδομάδα της κύησης και περιλαμβάνει τη λήψη εμβρυϊκών κυττάρων από τις προεκβολές (λάχνες) του χόριου (εμβρυϊκή μεμβράνη που συμμετέχει στο σχηματισμό του πλακούντα) (Εικόνα 6.12). Τα κύτταρα από τις χοριακές λάχνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο για τον έλεγχο των χρωμοσωμάτων (καρυότυπος) όσο και για βιοχημικές αναλύσεις και ανάλυση DNA όπως στη δρεπανοκυτταρική αναιμία.

Η αμνιοπαρακέντηση, σε σχέση με την λήψη χοριακών λαχνών, μας δίνει τη δυνατότητα παρασκευής χρωμοσωμάτων καλύτερης ποιότητας. Αντίθετα, η λήψη χοριακών λαχνών δίνει τη δυνατότητα πιο έγκαιρης διάγνωσης.

Στην περίπτωση διάγνωσης, με τον προγεννητικό έ-

λεγχο, σοβαρών γενετικών ανωμαλιών είναι δυνατή η διακοπή της κύησης χωρίς να δημιουργεί πρόβλημα υγείας στη μητέρα.

**Ο καρκίνος προκαλείται από μεταλλάξεις γονιδίων που ελέγχουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό**

Ο καρκίνος χαρακτηρίζεται από τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό κυττάρων ενός ιστού. Αυτά σχηματίζουν μάζες κυττάρων (καρκινικοί όγκοι) ή μεταναστεύουν στο αίμα όπως στις διάφορες μορφές λευχαιμιών. Αποτελέσματα μελετών έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι σχεδόν όλες οι περιπτώσεις καρκίνου προέρχονται από μεταλλά-

ξεις γονιδίων σωματικών κυττάρων.

Υπάρχουν δύο τύποι γονιδίων που σχετίζονται με την καρκινογένεση. Τα **ογκογονίδια** και τα **ογκοκατασταλτικά** γονίδια. Τα αποτελέσματα σχετικών ερευνών οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ο καρκίνος σε γενετικό επίπεδο είναι το αποτέλεσμα:

- Μετατροπή πρωτο-ογκογονιδίων σε ογκογονίδια
- Απουσίας λειτουργικότητας ογκοκατασταλτικών γονιδίων και
- Αδρανοποίησης των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA

Τα ογκογονίδια “προέρχονται” από γονίδια που υπάρχουν φυσιολογικά στο ανθρώπινο γονιδίωμα και ονομάζονται **πρωτο-ογκογονίδια**. Για ποιο λόγο όμως το κάθε κύτταρο να φέρει γονίδια τα οποία κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες θα οδηγήσουν στην καταστροφή του; Βρέθηκε ότι όλα τα πρωτο-ογκογονίδια έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική λειτουργία του κυττάρου, ενεργοποιώντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, σε περιπτώσεις που αυτός είναι απαραίτητος όπως στην επούλωση τραυμάτων. Όμως διάφορα είδη μεταλλάξεων, που μπορεί να προκληθούν από μεταλλαξογόνους παράγοντες, μετατρέπουν τα πρωτο-ογκογονίδια σε ογκογονίδια, τα οποία υπερλειτουργούν και οδηγούν το κύτταρο σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και δημιουργία καρκίνου. Η μετατροπή ενός πρωτο-ογκογονιδίου σε ογκογονίδιο μπορεί να είναι το αποτέλεσμα μιας σημειακής μετάλλαξης ή μιας χρωμοσωμικής ανωμαλίας, συνηθέστερα μετατόπισης.

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι γονίδια που ελέγχουν την κυτταρική διαίρεση, καταστέλλοντάς την, οπότε είναι απαραίτητο. Η αναστολή της δράσης τους που είναι συνήθως αποτέλεσμα μετάλλαξης, κυρίως έλλειψης, αφαιρεί από το κύτταρο τη δυνατότητα ελέγχου του πολλαπλασιασμού και οδηγεί σε καρκινογένεση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο καρκίνος του αμφιβληστροειδούς (ρετινοβλάστωμα) που είναι αποτέλεσμα έλλειψης ενός ογκοκατασταλτικού γονιδίου, το οποίο βρίσκεται στο με-

γάλο βραχίονα του χρωμοσώματος 13.

Τέλος, βλάβες στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA έχουν ως αποτέλεσμα την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου. Τα άτομα, για παράδειγμα, που πάσχουν από μελαγχρωματική ξηροδερμία εμφανίζουν πολλαπλάσια συχνότητα καρκίνων του δέρματος, κυρίως στις περιοχές που εκτίθενται στην ακτινοβολία του ήλιου, σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα. Είναι γνωστό ότι η ασθένεια δημιουργείται από ανικανότητα επιδιόρθωσης βλαβών που προκαλούνται από την υπεριώδη ακτινοβολία λόγω μετάλλαξης των γονιδίων που κωδικοποιούν τα επιδιορθωτικά ένζυμα.

Όπως έγινε φανερό, ο καρκίνος σχετίζεται με αλλαγές στο γενετικό υλικό. Εντούτοις δεν κληρονομείται ως απλός Μενδελικός χαρακτήρας, αλλά είναι αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Η πολυπλοκότητα της ασθένειας αυτής σχετίζεται με τα παρακάτω αίτια:

- Ο καρκίνος, σε αντίθεση με τις κληρονομικές ασθένειες, όπως η δρεπανοκυτταρική αναιμία, δεν προκαλείται από μία μετάλλαξη αλλά από τη “συσσώρευση” αρκετών γενετικών αλλαγών στα κύτταρα. Οι μεταλλάξεις αυτές είναι αποτέλεσμα διαφορετικών περιβαλλοντικών μεταλλαξογόνων παραγόντων όπως η ακτινοβολία ή χημικές ουσίες.
- Στη δημιουργία κάθε είδους καρκίνου συμμετέχουν συνήθως τόσο τα ογκογονίδια όσο και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια. Για παράδειγμα, στο καρκίνο του παχέος εντέρου βρέθηκε ότι συμμετέχουν περισσότερα από επτά γονίδια και των δύο τύπων, τα οποία έχουν υποστεί μεταλλάξεις (Εικόνα 6.14).



Εικόνα 6.13. Στάδια δημιουργίας καρκίνου του παχέος εντέρου. Περιλαμβάνουν διαδοχική απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων και ενεργοποίηση ογκογονιδίων.

## Περίληψη

Μετάλλαξη είναι μια αλλαγή στην αλληλουχία του DNA. Ο αντίστοιχος φαινότυπος ονομάζεται μεταλλαγμένος. Οι μεταλλάξεις προκαλούνται τυχαία ή από μεταλλαξογόνους παράγοντες, που είναι χημικές ουσίες και ακτινοβολίες.

Οι μεταλλάξεις μπορεί να είναι γονιδιακές ή χρωμοσωμικές. Όταν η αλλαγή αφορά μικρό αριθμό βάσεων, τότε η μετάλλαξη είναι γονιδιακή. Όταν σχετίζεται με αλλαγές σε μεγαλύτερο τμήμα του χρωμοσώματος, ονομάζεται χρωμοσωμική ανωμαλία. Οι γονιδιακές μεταλλάξεις είναι διαφόρων ειδών. Στη σημειακή μετάλλαξη αλλάζει μία μόνο βάση του DNA. Στην προσθήκη ή έλλειψη προστίθενται ή αφαιρούνται αντίστοιχα βάσεις. Η αλλαγή αυτή μπορεί να τροποποιήσει το πλαίσιο ανάγνωσης με δυσμενείς συνέπειες για τον οργανισμό...

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες αλλάζουν τον αριθμό ή τη δομή των χρωμοσωμάτων. Ο άνθρωπος έχει 22 ζεύγη αυτοσωμάτων και ένα ζεύγος φυλετικών χρωμοσωμάτων. Οι τρισωμίες (ένα επιπλέον χρωμόσωμα) εμφανίζονται συχνότερα από τις μονοσωμίες (έλλειψη ενός χρωμοσώματος) και προκαλούν λιγότερες βλάβες. Οι αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες των φυλετικών χρωμοσωμάτων είναι λιγότερο σοβαρές από αυτές των αυτοσωμάτων. Δημιουργούνται από μη διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων κατά τη μείωση.

Έλλειψη είναι απώλεια γενετικού υλικού από ένα χρωμόσωμα. Κατά την αμοιβαία μετατόπιση δύο μη ομόλογα χρωμοσώματα ανταλλάσσουν τμήματα. Αναστροφή είναι η λανθασμένη τοποθέτηση τμήματος χρωμοσώματος το οποίο έχει κοπεί και έχει τοποθετηθεί ύστερα από στροφή 180 μοιρών. Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες μελετώνται με τη δημιουργία του καρυότυπου, που αποτελεί απεικόνιση των χρωμοσωμάτων του ατόμου που μελετάται.

## Ερωτήσεις

1. Ένας γενετιστής βρήκε ότι μια μετάλλαξη σε ένα γονίδιο δεν είχε επίδραση στην πολυπεπτιδική αλυσίδα που κωδικοποιείται αυτό. Η συγκεκριμένη μετάλλαξη μπορεί να οφείλεται σε:

- ελλειψη μιας βάσης
- αλλαγή στο κωδικόνιο έναρξης
- προσθήκη μιας βάσης
- ελλειψη ολόκληρου του γονιδίου
- αντικατάσταση μιας βάσης

2. Η αλληλουχία αμινοξέων: Glu - Cys Met - Phe - Trp - Asp αποτελεί τμήμα μίας φυσιολογικής πρωτεΐνης. Προσδιορίστε τον τύπο μετάλλαξης, ο οποίος έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της αλληλουχίας ή / και του αριθμού των αμινοξέων σε κάθε μία από τις παρακάτω μεταλλαγμένες πρωτεΐνες; (συμβουλευτήτε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα)

Φυσιολογική πρωτεΐνη		Glu - Cys Met - Phe - Trp - Asp
Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη	A	Glu - Cys - Ile - Phe - Trp - Asp
Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη	B	Glu - Val - Cys - Ser - Gly - Thr
Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη	Γ	Glu - Cys - Met - Phe
Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη	Δ	Glu - Met - Tyr - Val - Leu - Gly

3. Οι παρακάτω μεταλλαγμένες αιμοσφαιρίνες χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένη αντικατάσταση αμινοξέων στην πολυπεπτιδική αλυσίδα. Πως πραγ-

ματοποιήθηκαν οι αλλαγές αυτές. (συμβουλευτήτε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα)

Μεταλλαγμένη Αιμοσφαιρίνη	Αλυσίδα αιμοσφαιρίνης	Θέση	Αντικατάσταση αμινοξέος
Hb Hikari	β	61	Λυσίνη -> Ασπαργίνη
Hb I	α	16	Λυσίνη -> Γλουταμίνη
Hb D Idaban	β	87	Θρεονίνη -> Λυσίνη
Hb G Philadelphia	α	68	Ασπαργίνη -> Λυσίνη

4. Η αιμοσφαιρίνη C (HbC) δημιουργείται από μια μετάλλαξη στη φυσιολογική αιμοσφαιρίνη A (HbA). Στην 6η θέση της β-αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης C υπάρχει το αμινοξύ λυσίνη αντί του γλουταμινικού οξέος (HbA). Με ποίο γενετικό μηχανισμό μπορεί να ερμηνευτεί η αντικατάσταση του αμινοξέως; Να δοθεί απάντηση σε επίπεδο μακρομορίων. (συμβουλευτήτε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα).

5. Μία παθολογική αιμοσφαιρίνη που υπάρχει στον άνθρωπο είναι η Constant Spring. Η αλυσίδα α της αιμοσφαιρίνης αυτής αποτελείται από 172 αμινοξέα (η αλυσίδα α της φυσιολογικής αιμοσφαιρίνης έχει 141 αμινοξέα).

- περιγράψτε τον τύπο της αλλαγής η οποία μπορεί να δώσει αυτόν τον φαινότυπο.
- στην αιμοσφαιρίνη Constant Spring το 142ο αμινοξύ είναι η γλουταμίνη. Άλλες παραλλαγές της παθολογικής αυτής αιμοσφαιρίνης (αλυσίδα α από 172 αμινοξέα) έχουν στην θέση 142 σερίνη ή λυσίνη. Με

ποιό τρόπο δημιουργήθηκαν αυτά τα αμινοξέα και τι σχέση μπορούν να έχουν με την ύπαρξη περισσοτέρων αμινοξέων στην αλυσίδα α;

γ. η ακολουθία αμινοξέων από την θέση 143 έως την 172 για όλες αυτές τις παραλλαγές της αιμοσφαιρίνης Constant Spring είναι η ίδια. Τι συμπεράσματα βγαίνουν; (συμβουλευτήτε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα).

6. Ποιές από τις παρακάτω προτάσεις που αφορούν το φαινόμενο της ανευπλοειδίας είναι λάθος και γιατί:

- οφείλεται συνήθως στο μη διαχωρισμό ενός ζεύγους ομολόγων χρωμοσωμάτων κατά τη μείωση
- υπάρχει ένα επιπλέον χρωμόσωμα
- υπάρχει ένα λιγότερο χρωμόσωμα
- λείπει τμήμα ενός χρωμοσώματος

7. Τα χρωμοσώματα στα σωματικά κύτταρα του ανθρώπου είναι 46.

Πόσα χρωμοσώματα υπάρχουν αντίστοιχα στα πιο κάτω κύτταρα;

	A	B	Γ	Δ	Ε
Ζυγωτό	46	23	46	46	46
Κύτταρο γαμέτης	23	23	46	23	23
Σωματικό κύτταρο ατόμου μονοσωμικού	45	45	45	45	45
Σωματικό κύτταρο ατόμου τρισωμικού	47	47	47	47	24

8. Ποιο θα είναι το αποτέλεσμα στη σύνθεση πρωτεΐνης σε προκαρυωτικό κύτταρο αν στο γονίδιο που την κωδικοποιεί γίνει αντικατάσταση μίας βάσης;

9. Να σχηματίσετε τα σωστά ζευγάρια:

- |                         |                                      |
|-------------------------|--------------------------------------|
| α. Σύνδρομο cri du chat | 1. τρισωμία φυλετικών χρωμοσωμάτων   |
| β. Σύνδρομο Klinefelter | 2. τρισωμία αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων |
| γ. Σύνδρομο Down        | 3. μονοσωμία φυλετικών χρωμοσωμάτων  |
| δ. Σύνδρομο Turner      | 4. έλλειψη                           |

10. Για ποιο λόγο νομίζετε ότι οι τρισωμίες που παρατηρούνται με σχετικά μεγάλη συχνότητα αφορούν τα χρωμοσώματα 13, 18 και 21.

11. Ποιες από τις παρακάτω γενετικές ανωμαλίες μπορούν να ανιχνευθούν με τη βοήθεια του καρυστύπου; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας

- Δρεπανοκυταρική αναιμία
- Σύνδρομο Klinefelter
- Σύνδρομο Down
- Φαινυλκετονουρία
- β-Θαλασαιμία
- Σύνδρομο Turner

12. Ποιές από τις παρακάτω δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες έχουν ως αποτέλεσμα την αλλαγή του ποσού της γενετικής πληροφορίας; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

- έλλειψη
- αναστροφή
- διπλασιασμός
- αμοιβαία μετατόπιση

## Βιο... περίπατοι στο Διαδίκτυο (Internet)

Όνομα ιστοσελίδας	Περιγραφή	Διεύθυνση στο Internet
1. <b>Disease Genetics</b>	Μια εξαιρετική παρουσίαση των σχέσεων Γενετικής και Ασθενειών. Μια επίσκεψη θα σας πείσει.	<a href="http://raven.umnh.utah.edu/review/redo/diseasemenu.html">http://raven.umnh.utah.edu/review/redo/diseasemenu.html</a>
2. <b>Visible Embryo</b>	Πλούσιο φωτογραφικό υλικό σχετικά με τις τέσσερες πρώτες εβδομάδες της ανάπτυξης του ανθρώπινου εμβρύου	<a href="http://visembryo.ucsf.edu/">http://visembryo.ucsf.edu/</a>
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		

(Προσθέστε επιπλέον διευθύνσεις σχετικές με το θέμα από τις δικές σας εξερευνήσεις του κυβερνοχώρου)

# Αρχές και μεθοδολογία της Βιοτεχνολογίας



Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας.

κεφάλαιο

7



# 7. Αρχές και μεθοδολογία της Βιοτεχνολογίας

## Ένα περιστατικό από το άμεσο μέλλον

Στην εντατική κλινική ενός νοσοκομείου ο γιατρός κάνει ένεση με την πρωτεΐνη ενεργοποιητή πλασμινογόνου (tPA) σε έναν ασθενή, ο οποίος μόλις έχει φτάσει με καρδιακό ισχαιμικό επεισόδιο. Μέσα σε λίγα λεπτά το tPA διαλύει τους θρόμβους που παρεμποδίζουν την κυκλοφορία του αίματος. Στον άνθρωπο αυτή η σημαντική για την κυκλοφορία του αίματος πρωτεΐνη βρίσκεται σε ίχνη. Η πρωτεΐνη που δόθηκε ως φάρμακο στον ασθενή έχει παραχθεί από βακτήρια, έχει όμως την ίδια σύσταση με το δικό του tPA. Εάν δεν είχε αναπτυχθεί αυτή η μεθοδολογία, θα ήταν αδύνατη η χρησιμοποίηση αυτού του φαρμάκου, καθώς οι συμβατικές μέθοδοι δεν επιτρέπουν την παραγωγή του σε μεγάλες ποσότητες. Η παρασκευή τόσο του tPA όσο και των άλλων «φαρμακευτικών» πρωτεϊνών είναι δυνατή λόγω της ανάπτυξης τεχνικών χειρισμού του γενετικού υλικού και της χρησιμοποίησης γενετικά τροποποιημένων οργανισμών.

## Η Βιοτεχνολογία προσφέρει τη δυνατότητα χρησιμοποίησης των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων

Οι ζωντανοί οργανισμοί χρησιμοποιούνται εδώ και χιλιάδες χρόνια για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων. Παλαιότερα χρησιμοποιούντο κυρίως για την παραγωγή ψωμιού, μπίρας και κρασιού. Σήμερα οι εξελίξεις στην Επιστήμη και στην Τεχνολογία δίνουν τη δυνατότητα χρησιμοποίησης των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή ευρείας κλίμακας προϊόντων όπως τροφίμων, αντιβιοτικών και εμβολίων. Ο όρος Βιοτεχνολογία χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Ούγγρο Kark Ereky το 1919, για να περιγράψει τη «διαδικασία παραγωγής προϊόντων από ακατέργαστα υλικά με τη βοήθεια ζωντανών οργανισμών». Σήμερα η **Βιοτεχνολογία** αποτελεί συνδυασμό Επιστήμης και Τεχνολογίας με στόχο την εφαρμογή των γνώσεων που έχουν αποκτηθεί από τη μελέτη των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή σε ευρεία κλίμακα χρήσιμων προϊόντων. Τέτοια προϊόντα είναι, για παράδειγμα, η αλκοόλη, που παράγεται με ζύμωση, και η ανθρώπινη ινσουλίνη, που παράγεται από γενετικά τροποποιημένα βακτήρια. Η Βιοτεχνολογία συνεισφέρει σε διάφορους τομείς όπως είναι η Ιατρική, η Γεωργία, η Κτηνοτροφία, η Βιομηχα-

νία και η προστασία του περιβάλλοντος.

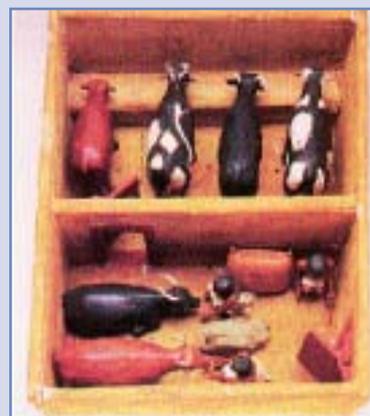
Βιοτεχνολογία με την ευρεία έννοια είναι η χρήση ζωντανών οργανισμών προς όφελος του ανθρώπου.

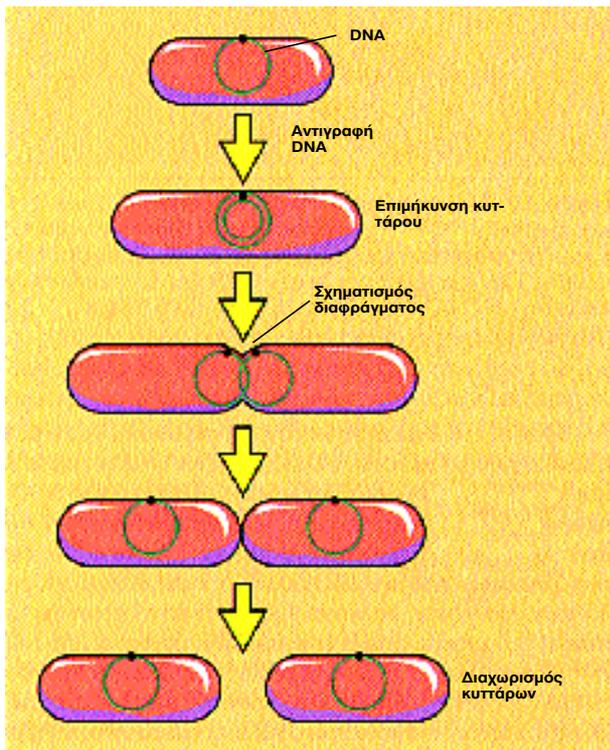
Η Βιοτεχνολογία στηρίζεται κυρίως σε τεχνικές καλλιέργειας και ανάπτυξης των μικροοργανισμών και σε τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA. Οι τελευταίες βρίσκουν άμεση εφαρμογή στη Βιοτεχνολογία, επειδή παρέχουν τη δυνατότητα εισαγωγής νέων επιθυμητών ιδιοτήτων στους ζωντανούς οργανισμούς σε μικρότερο χρόνο και με μεγαλύτερη ακρίβεια από ότι στο παρελθόν. Το νέο στη Βιοτεχνολογία είναι όχι οι ιδέες εφόσον και στο παρελθόν είχαν γίνει προσπάθειες τροποποίησης των ιδιοτήτων των οργανισμών, αλλά οι τεχνικές για την υλοποίησή τους.

Στο κεφάλαιο αυτό θα εξετάσουμε μερικές από τις μεθόδους και εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας. Οι νέες τεχνολογίες, στις οποίες συμπεριλαμβάνεται η Βιοτεχνολογία, αλλάζουν την κοινωνία μας με μεγαλύτερη ταχύτητα από ότι στο παρελθόν, με ανεξέλεγκτα ίσως αποτελέσματα. Αυτό αναπόφευκτα δημιουργεί νέα κοινωνικά και ηθικά διλήμματα, μερικά από τα οποία θα συζητηθούν στο κεφάλαιο της Βιοηθικής.

## Η Βιοτεχνολογία μερικές χιλιετίες πριν

Σύμφωνα με ενδείξεις οι Αιγύπτιοι παρήγαγαν μπίρα την 7η χιλιετία π.Χ., ενώ την 4η χιλιετία π.Χ. σε περιοχές της Μεσοποταμίας γινόταν καλλιέργεια της αμπέλου (*Vitis vinifera*) για την παραγωγή κρασιού. Ιστορικές πληροφορίες σχετικά με την ελεγχόμενη εκτροφή ζώων από τον άνθρωπο υπάρχουν σε τοιχογραφίες αιγυπτιακών τάφων, που χρονολογούνται στο 4000 π.Χ. και παρουσιάζουν ελεγχόμενες διασταυρώσεις σκύλων.





Εικόνα 7.1. Διαίρεση προκαρυωτικού κυττάρου.

## Οι μικροβιακές καλλιέργειες αποτελούν ένα σημαντικό εργαλείο για τη Βιοτεχνολογία

Οι μικροοργανισμοί όταν βρεθούν σε κατάλληλες συνθήκες, αυξάνονται σε μέγεθος και διαιρούνται με αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού τους. Τα κύτταρα που προκύπτουν μετά από κάθε διαίρεση έχουν πρακτικά το ίδιο μέγεθος με το αρχικό κύτταρο (Εικόνα 7.1). Ο ρυθμός ανάπτυξης ενός πληθυσμού μικροοργανισμών καθορίζεται από το χρόνο διπλασιασμού, δηλαδή, από το ρυθμό με τον οποίο διαιρούνται τα κύτταρά του (Πίνακας 7.1). Κάθε είδος μικροοργανισμού έχει χαρακτηριστικό χρόνο διπλασιασμού.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού και κατά συνέπεια το ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, το pH, το O<sub>2</sub> και η θερμοκρασία.

Όπως και όλοι οι υπόλοιποι οργανισμοί, για να αναπτυχθεί ένας μικροοργανισμός είναι απαραίτητο να μπορεί να προμηθευτεί από το περιβάλλον στο οποίο α-

ΠΙΝΑΚΑΣ 7.1: Χρόνος διπλασιασμού για διάφορα είδη μικροοργανισμών.	
Είδος	Χρόνος διπλασιασμού σε ιδανικές συνθήκες
<i>Escherichia coli</i>	20 min
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	18 h
<i>Amoeba proteus</i>	24 h
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2h

ναπτύσσεται μια σειρά **θρεπτικών συστατικών**. Σ' αυτά περιλαμβάνονται το νερό, ο άνθρακας, το άζωτο και διάφορα μεταλλικά ιόντα. Η πηγή C για τους αυτότροφους μικροοργανισμούς είναι το CO<sub>2</sub> της ατμόσφαιρας, ενώ για τους ετερότροφους διάφορες οργανικές ενώσεις όπως οι υδατάνθρακες. Η πηγή N για τους περισσότερους μικροοργανισμούς είναι τα αμμωνιακά ή τα νιτρικά ιόντα (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Τέλος, τα μεταλλικά ιόντα είναι απαραίτητα για την πραγματοποίηση των χημικών αντιδράσεων στο κύτταρο και ως συστατικά διαφόρων μορίων.

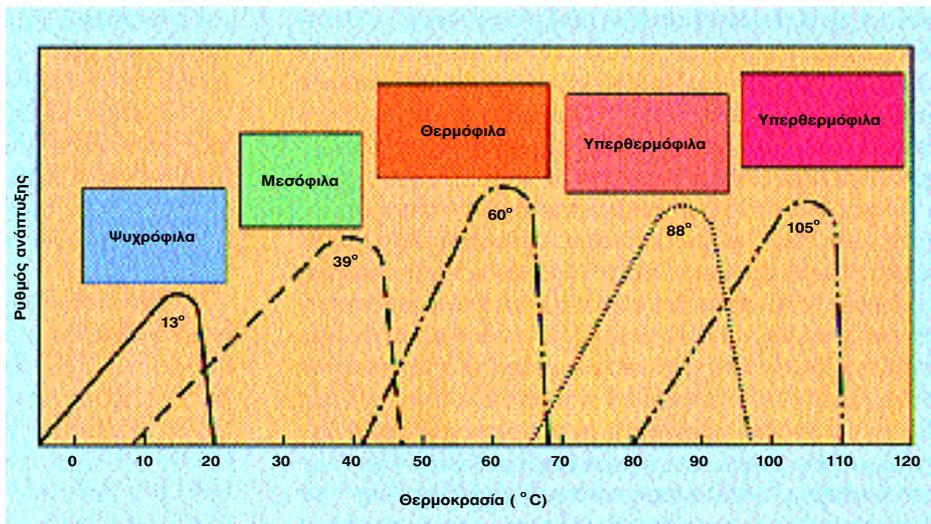
Το **pH** επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Οι περισσότεροι αναπτύσσονται σε pH 6-9. Υπάρχουν όμως μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε διαφορετικό pH, όπως είναι τα βακτήρια του γένους *Lactobacillus*, που αναπτύσσονται σε pH 4-5.

Η **παρουσία ή απουσία O<sub>2</sub>** μπορεί να βοηθήσει ή να αναστείλει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Υπάρχουν μικροοργανισμοί που για την ανάπτυξή τους απαιτούν υψηλή συγκέντρωση O<sub>2</sub> (**υποχρεωτικά αερόβιοι**) όπως τα βακτήρια του γένους *Mycobacterium*. Άλλοι μικροοργανισμοί, όπως οι μύκητες που χρησιμοποιούνται στην αρτοποιηχανία, ανήκουν στην κατηγορία των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται παρουσία O<sub>2</sub> με ταχύτερο ρυθμό απ' ότι απουσία O<sub>2</sub> (**προαιρετικά αερόβιοι**). Τέλος, υπάρχουν μικροοργανισμοί όπως βακτήρια του γένους *Clostridium* για τους οποίους το O<sub>2</sub> είναι τοξικό (**υποχρεωτικά αναερόβιοι**).

Η **θερμοκρασία** είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που καθορίζουν το ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται άριστα σε θερμοκρασία 20-45° C. Για παράδειγμα, η *Escherichia coli*, που χρησιμοποιείται σε πειράματα Μοριακής Βιολογίας, αναπτύσσεται άριστα σε θερμοκρασία 37° C. Υπάρχουν όμως ορισμένοι που για την ανάπτυξή τους απαιτούν θερμοκρασία μεγαλύτερη από 45° C, όπως αυτοί που αναπτύσσονται κοντά σε θερμοπηγές, και άλλοι που αναπτύσσονται σε θερμοκρασία μικρότερη των 20° C (Εικόνα 7.2).

### Ένα ένζυμο που του αρέσει η ζέση

Ο *Thermus aquaticus* είναι ένα θερμοφιλό βακτήριο, το οποίο αναπτύσσεται κοντά σε θερμοπηγές όπου η θερμοκρασία πλησιάζει τους 80°C. Το βακτήριο αυτό χρησιμοποιείται για την παραγωγή μίας DNA πολυμεράσης (Ταq πολυμεράση). Το ένζυμο αυτό είναι σταθερό, αν θερμανθεί στους 95°C. Η ιδιότητά του αυτή το κάνει κατάλληλο για χρήση στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), μίας από τις σύγχρονες τεχνικές της Μοριακής Βιολογίας.



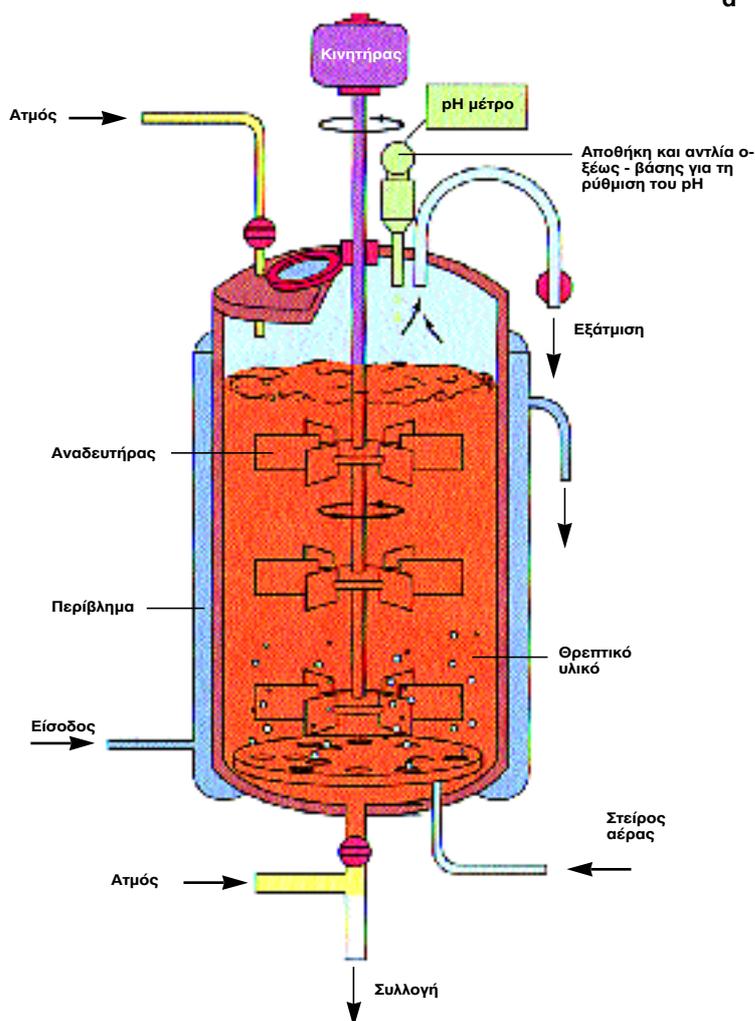
Εικόνα 7.2. Σχέση του ρυθμού ανάπτυξης μικροοργανισμών με τη θερμοκρασία. Αναφέρονται παραδείγματα πέντε χαρακτηριστικών μικροοργανισμών που αναπτύσσονται σε διαφορετικές θερμοκρασίες καθώς και τη βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης για καθένα από αυτούς.

## Οι μικροοργανισμοί μπορούν να αναπυχθούν στο εργαστήριο και σε βιομηχανική κλίμακα

Οι επιστήμονες είχαν ήδη αρχίσει από τα μέσα του δέκατου ένατου αιώνα τις προσπάθειες για την καλλιέργεια βακτηρίων και μυκήτων. Ο Louis Pasteur στο Παρίσι υπήρξε από του πρωτοπόρους αυτής της προσπάθειας. Για το σκοπό αυτό ήταν απαραίτητη η απομόνωση αρχικά των διαφόρων ειδών βακτηρίων ή μυκήτων, η παρασκευή κατάλληλων θρεπτικών υλικών και η διαμόρφωση κατάλληλων συνθηκών ανάπτυξης. Σήμερα οι μικροοργανισμοί οι οποίοι χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων όπως αντιβιοτικά ή ένζυμα μπορούν να αναπυχθούν στο εργαστήριο και σε μεγάλη κλίμακα στις βιομηχανικές μονάδες κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες καλλιέργειας. Για την ανάπτυξή τους χρησιμοποιούνται τεχνητά θρεπτικά υλικά. Αυτά πρέπει να περιέχουν πηγή άνθρακα, πηγή αζώτου και ιόντα. Στην περίπτωση αερόβιων μικροοργανισμών, είναι απαραίτητη η παρουσία οξυγόνου. Τα **θρεπτικά υλικά** που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών στο εργαστήριο μπορεί να είναι υγρά ή στερεά. Τα υγρά θρεπτικά υλικά περιέχουν όλα τα θρεπτικά συστατικά που αναφέρθηκαν προηγουμένως διαλυμένα σε νερό. Τα στερεά θρεπτικά υλικά παρασκευάζονται με ανάμιξη των υγρών θρεπτικών υλικών με ένα πολυσακχαρίτη που προέρχεται από φύκη το **άγαρ**. Το άγαρ είναι ρευστό σε θερμοκρασίες πάνω από 45° C αλλά στερεοποιείται σε μικρότερες θερμοκρασίες. Μία καλλιέργεια ξεκινάει με την προσθήκη μικρής ποσότητας κυττάρων στο θρεπτικό υλικό, μια διαδικασία που ονομάζεται **εμβολιασμός**. Μετά τον εμβολιασμό οι μικροοργανισμοί παραμένουν σε ένα κλίβανο που εξασφαλίζει σταθερή θερμοκρασία κατάλληλη για την ανάπτυξη τους. Με αυτό τον τρόπο σε μικρό χρονικό διάστημα, 12-76 ωρών, παράγεται μεγάλος αριθμός βακτηρίων. Οι καλ-

λιέργειες αυτές μπορούν να διατηρηθούν σε αδρανή μορφή στην κατάψυξη (-80° C) για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα. Για την αποφυγή ανάπτυξης άλλων μικροοργανισμών, εκτός εκείνων που πρόκειται να καλλιεργηθούν, τα θρεπτικά υλικά και οι συσκευές αποστειρώνονται πριν από την έναρξη της καλλιέργειας.

Όταν γίνεται καλλιέργεια μικροοργανισμών σε μεγάλη κλίμακα (βιομηχανική καλλιέργεια) χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές που ονομάζονται **ζυμωτήρες ή βιοαντιδραστήρες** (Εικόνα 7.3). Οι βιοαντιδραστήρες επιτρέπουν τον έλεγχο και τη ρύθμιση των συνθηκών (θερμοκρασία, pH, συγκέντρωση O<sub>2</sub>) που αφορούν την καλλιέργεια. Στο θρεπτικό υλικό, που προστίθεται στους βιοαντιδραστήρες, χρησιμοποιούνται φθηνές πηγές άνθρακα όπως η μελάσα που αποτελεί παραπροϊόν της επεξεργασίας ζαχαροκάλαμου ή σακχαρότευτλων. Η καλλιέργεια στο βιοαντιδραστήρα ξεκινάει με τον εμβολιασμό από μια αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών που έχει γίνει στο εργαστήριο. Μέσα στο βιοαντιδραστήρα οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται και πολλαπλασιάζονται χρησιμοποιώντας τα συστατικά του θρεπτικού υλικού. Όλες οι διεργασίες πρέπει να γίνονται κάτω από στείρες συνθήκες για να μην γίνει μόλυνση της καλλιέργειας. Ο ίδιος ο βιοαντιδραστήρας και το θρεπτικό υλικό αποστειρώνονται πριν από τη χρήση. Με τον όρο **ζύμωση** εννοούμε την διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό κάτω από οποιοσδήποτε συνθήκες. Ο όρος ζύμωση παλαιότερα χρησιμοποιείτο μόνον για αναερόβιες διεργασίες αλλά σήμερα χρησιμοποιείται με την ευρεία έννοια και περιλαμβάνει όλες τις διεργασίες αερόβιες και αναερόβιες. Το προϊόντα της ζύμωσης είναι είτε τα ίδια τα κύτταρα που ονομάζονται **βιομάζα** είτε προϊόντα των κυττάρων όπως πρωτεΐνες και αντιβιοτικά.



α



β

Εικόνα 7.3. α. Διαγραμματική απεικόνιση βιοαντιδραστήρα, όπου φαίνονται τα διάφορα τμήματά του, καθώς και οι συσκευές ελέγχου των συνθηκών ζύμωσης β. Φωτογραφία βιοαντιδραστήρα.

## Οι μικροοργανισμοί μπορούν να καλλιεργηθούν με διαφορετικούς τρόπους

Υπάρχουν διάφοροι τύποι ζυμώσεων, οι οποίοι μπορούν να εφαρμοστούν ανάλογα με το επιθυμητό προϊόν. Δύο ευρέως χρησιμοποιούμενοι τύποι είναι η κλειστή και η συνεχής καλλιέργεια.

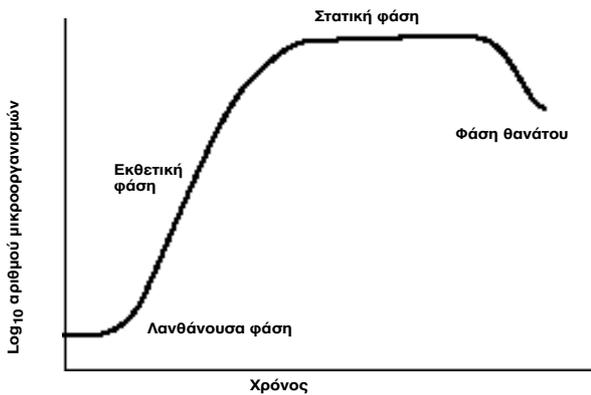
**Κλειστή καλλιέργεια:** Σ' αυτό τον τύπο ζύμωσης τοποθετείται στο βιοαντιδραστήρα ορισμένη ποσότητα αποστειρωμένου θρεπτικού υλικού, η οποία εμβολιάζεται με αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών. Η καλλιέργεια συνεχίζεται μέχρι την παραγωγή του επιθυμητού προϊόντος. Στην κλειστή καλλιέργεια οι φάσεις ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι η λανθάνουσα, η εκθετική, η στατική και η φάση θανάτου (Εικόνα 7.4).

Κατά τη **λανθάνουσα φάση** ο πληθυσμός των μικροοργανισμών που προέρχεται από την αρχική καλλιέρ-

### Η Βιοτεχνολογία με αριθμούς

**Καλλιέργεια *Escherichia coli* σε υγρό θρεπτικό υλικό για 12 ώρες στους 37° C παράγει περίπου 10<sup>9</sup> βακτήρια ανά ml καλλιέργειας.**

για παραμένει σχεδόν σταθερός. Αυτό οφείλεται στο ότι οι μικροοργανισμοί χρειάζονται κάποιο χρονικό διάστημα, για να προσαρμοστούν στις καινούριες συνθήκες και να αρχίσουν να αναπτύσσονται. Στη συνέχεια, οι μικροοργανισμοί διαιρούνται με ταχύ ρυθμό, επειδή η καλλιέργεια πραγματοποιείται κάτω από άριστες συνθήκες θερμοκρασίας, pH, συγκέντρωσης O<sub>2</sub> και στο υλικό καλλιέργειας υπάρχουν άφθονα θρεπτικά συστατικά. Αυτή η φάση ανάπτυξης ονομάζεται **εκθετική**, επειδή ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται εκθετικά. Ακολουθεί η **στατική**



Εικόνα 7.4. Καμπύλη ανάπτυξης μικροοργανισμού σε κλειστή καλλιέργεια.

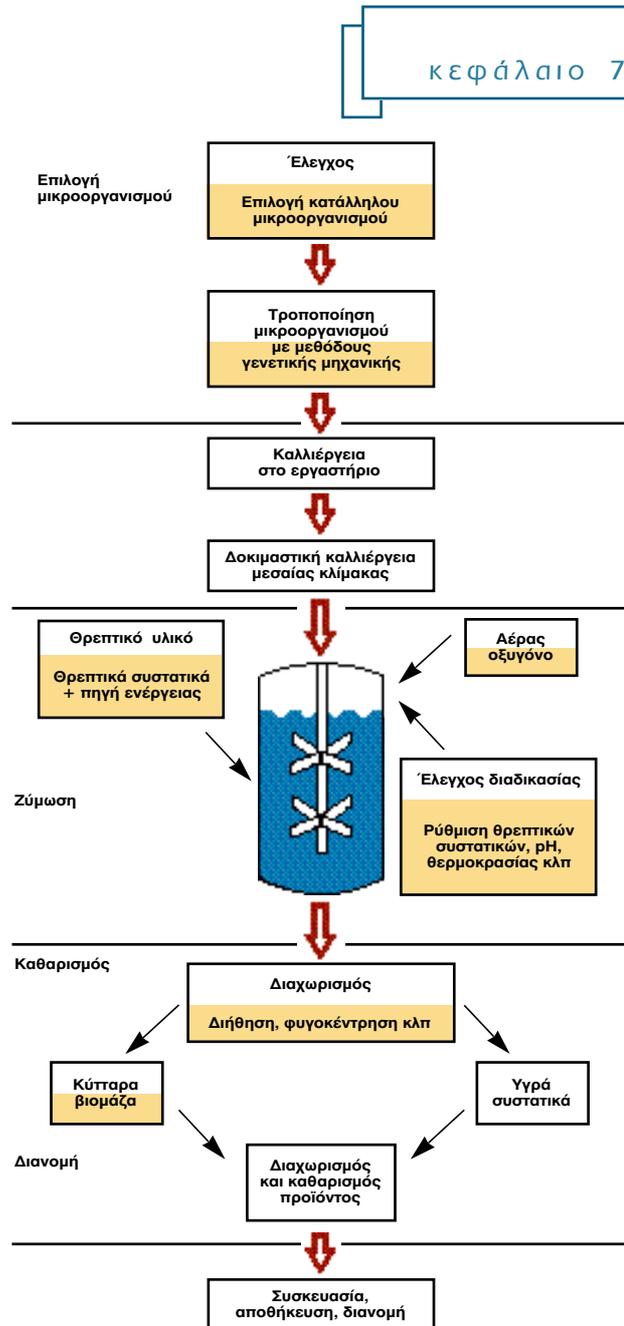
**φάση**, κατά την οποία ο πληθυσμός των βακτηρίων δεν αυξάνεται, λόγω εξάντλησης κάποιου θρεπτικού συστατικού ή λόγω συσσώρευσης τοξικών προϊόντων από το μεταβολισμό των μικροοργανισμών. Τέλος κατά τη **φάση θανάτου** ο αριθμός των μικροοργανισμών μειώνεται. Παρ'ότι η διαδοχή των φάσεων ανάπτυξης σε κάθε κλειστή καλλιέργεια είναι συγκεκριμένη η διάρκεια κάθε φάσης διαφέρει ανάλογα με το είδος των μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί παράγουν χρήσιμα προϊόντα συνήθως κατά τη διάρκεια της εκθετικής και της στατικής φάσης ανάπτυξης τους.

**Συνεχής καλλιέργεια:** Σ' αυτό τον τύπο καλλιέργειας οι μικροοργανισμοί τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά συστατικά. Ταυτόχρονα, απομακρύνονται από την καλλιέργεια κύτταρα και άχρηστα προϊόντα. Με αυτό τον τρόπο οι μικροοργανισμοί βρίσκονται διαρκώς σε εκθετική φάση ανάπτυξης.

### Η παραλαβή των προϊόντων ζύμωσης απαιτεί τη χρησιμοποίηση σειράς τεχνικών καθαρισμού

Τελική κατεργασία είναι η διεργασία καθαρισμού του προϊόντος που παραλαμβάνεται από το βιοαντιδραστήρα. Αρχικά, γίνεται διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά, στα οποία συμπεριλαμβάνονται και τα κύτταρα. Αυτό γίνεται συνήθως με διήθηση ή με φυγοκέντρηση. Το επιθυμητό προϊόν μπορεί να περιλαμβάνεται στα στερεά ή υγρά συστατικά. Από τα στερεά συστατικά παραλαμβάνουμε τα ίδια τα κύτταρα δηλαδή τη βιομάζα ή διάφορα ενδοκυτταρικά προϊόντα όπως πρωτεΐνες, που δεν εκκρίνονται. Στα υγρά συστατικά περιέχονται διάφορες πρωτεΐνες, όπως ιντερφερόνες, αντιβιοτικά που εκκρίνονται από τα κύτταρα στο θρεπτικό υλικό.

Τα προϊόντα της ζύμωσης μπορούν να αξιοποιηθούν μόνο όταν είναι απόλυτα καθαρά, δηλαδή όταν δεν έχουν



Εικόνα 7.5. Σταδία παραγωγής προϊόντων με τη χρήση μικροοργανισμών.

προσμείξεις. Για το σκοπό αυτό μετά τον αρχικό διαχωρισμό χρησιμοποιείται μια πληθώρα βιοχημικών τεχνικών διαχωρισμού και καθαρισμού όπως η χρωματογραφία, η εκχύλιση, και η απόσταξη, για τον τελικό καθαρισμό του προϊόντος (Εικόνα 7.5).

### Η παραγωγή της πενικιλίνης αποιεθεί σημαντικό ρόλο στην πορεία της Βιοτεχνολογίας

Η ανακάλυψη της πενικιλίνης το 1928 από τον Fleming είναι το σημείο αφετηρίας για την αντιμετώπιση μιας σει-

ράς ασθενειών με τη χρήση αντιβιοτικών. Η πενικιλίνη, που άρχισε να χρησιμοποιείται σε ευρεία κλίμακα κατά τη διάρκεια του 2ου Παγκόσμιου Πολέμου, έχει σώσει εκατομμύρια ζωές προσφέροντας προστασία από σοβαρές ασθένειες όπως οι πνευμονικές λοιμώξεις, η βλεννόρροια και η σύφιλη. Η παραγωγή της πενικιλίνης αποτελεί την πρώτη εφαρμογή μεθόδων Βιοτεχνολογίας με χρησιμοποίηση των μικροοργανισμών για παραγωγή και άλλων προϊόντων εκτός από τρόφιμα και ποτά.

Η πενικιλίνη είναι προϊόν μυκήτων του γένους *Penicillium*. Η παραγωγή της εξαρτάται από το στέλεχος του μύκητα που χρησιμοποιείται, από το θρεπτικό υλικό στο οποίο αναπτύσσεται και από τις συνθήκες καλλιέργειας. Στελέχη τα οποία έχουν επιλεγεί για την υψηλή απόδοση τους καλλιεργούνται αρχικά στο εργαστήριο σε στερεό θρεπτικό υλικό. Στη συνέχεια, τα στελέχη αυτά χρησιμοποιούνται ως αρχική καλλιέργεια για ανάπτυξη σε βιοαντιδραστήρες. Το θρεπτικό υλικό περιέχει γλυκόζη ως πηγή άνθρακα, πρωτεΐνη από αλεύρι σόγιας ως πηγή αζώτου, καθώς και ιόντα όπως φωσφορικά και ασβέστιο. Στα αρχικά στάδια της καλλιέργειας (λανθάνουσα και εκθετική φάση), που διαρκούν 30-40 ώρες αυξάνεται η βιομάζα του μύκητα. Στη συνέχεια, προστίθεται γλυκόζη σε χαμηλή συγκέντρωση, σταματάει η ανάπτυξη του μύκητα (στατική φάση) και αρχίζει η παραγωγή της πενικιλίνης. Η καλλιέργεια διαρκεί έως και 15 ημέρες. Για την παραγωγή πενικιλίνης σε καθαρή μορφή χρησιμοποιούνται φυσικές και χημικές μέθοδοι. Αρχικά απομακρύνονται τα κύτταρα του μύκητα με διήθηση. Στη συνέχεια, η πενικιλίνη εκχυλίζεται από το διήθημα με μία σειρά διαλυτών. Στο τέλος της εκχύλισης η καθαρή πενικιλίνη παραμένει διαλυμένη σε νερό. Με εξάτμιση του νερού παραλαμβάνεται σε κρυσταλλική μορφή συνήθως ως άλας του Na ή του K (η πενικιλίνη είναι ασθενές οξύ).

## Ταξίδι στο χρόνο

- 1957** Κατά τη διάρκεια μιας επιδημίας δυσεντερίας στην Ιαπωνία ανακαλύπτονται βακτήρια τα οποία παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε μια σειρά αντιβιοτικών. Λίγο αργότερα αποκαλύπτεται ότι η ανθεκτικότητα αυτή οφείλεται σε γονίδια που υπάρχουν στα πλασμίδια.
- 1970** Απομονώνεται η περιοριστική ένδονουκλεάση του DNA, EcoRI, δηλαδή ένα ένζυμο που υδρολύει (κόβει) το DNA σε συγκεκριμένα σημεία της νουκλεοτιδικής του αλληλουχίας.
- 1975** Η τεχνολογία των μονοκλωνικών αντισωμάτων κάνει την εμφάνισή της.
- 1976** Δημιουργείται στο San Fransisco της California η πρώτη ιδιωτική εταιρεία παραγωγής προϊόντων με χρήση τεχνικών ανασυνδυασμένου DNA.
- 1978** Επιτυγχάνεται η παραγωγή από βακτήρια ανασυνδυασμένης ανθρώπινης σωματοστατίνης, μιας πρωτεΐνης που ρυθμίζει τη δράση των αυξητικών ορμονών.
- 1980** Ψηφίζεται στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής νόμος ο οποίος επιτρέπει την μεταφορά τεχνολογίας και τεχνολογίας από πανεπιστημιακά και ερευνητικά ιδρύματα σε εμπορικές εταιρείες
- 1982** Δίνεται άδεια χρήσης ανασυνδυασμένης ανθρώπινης ινσουλίνης ως φάρμακου για διαβητικούς. Τον ίδιο χρόνο, το πρώτο γενετικά τροποποιημένο φυτό (μια ποικιλία καπνού) απελευθερώνεται στο φυσικό περιβάλλον.
- 1989** Ξεκινά το Πρόγραμμα Χαρτογράφησης του Ανθρώπινου Γονιδιώματος (HUGO, Human Genome Organisation).
- 1990** Εφαρμόζεται πειραματικά η γονιδιακή θεραπεία σε ένα τετράχρονο κοριτσάκι το οποίο πάσχει από έλλειψη του γονιδίου της απαμινάσης της αδενοσίνης (ADA).
- 1995** Ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας γονιδιώματος ενός βακτηρίου (*Haemophilus influenzae*).
- 1996** Ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας του πρώτου ευκαρυωτικού γονιδιώματος (*Saccharomyces cerevisiae*).
- 1997** Το Ινστιτούτο Roselin της Σκωτίας ανακοινώνει την κλωνοποίηση της προβατίνας Dolly.
- 1998** Ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας του πρώτου γονιδιώματος πολυκύτταρου οργανισμού (*Caenorhabditis elegans*).

## Περίληψη

Η Βιοτεχνολογία αποτελεί συνδυασμό επιστήμης και τεχνολογίας με στόχο την χρησιμοποίηση των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή σε ευρεία κλίμακα χρήσιμων προϊόντων. Στηρίζεται κυρίως σε τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA και καλλιέργειας μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες κατά τις οποίες υπάρχει μια σειρά κατάλληλων θρεπτικών συστατικών. Σε μια καλλιέργεια μεγάλης κλίμακας (βιομηχανική καλλιέργεια) χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές, που ονομάζονται βιοαντιδραστήρες. Ζύμωση είναι η διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό κάτω από κατάλληλες συνθήκες. Τα προϊόντα της ζύμωσης είναι τα ίδια τα κύτταρα (βιομάζα) ή μερικά χρήσιμα προϊόντα τους όπως πρωτεΐνες και αντιβιοτικά. Τα προϊόντα λαμβάνονται ύστερα από τελική κατεργασία, δηλαδή από μια διεργασία καθαρισμού του με βιοχημικές, κυρίως, τεχνικές.

## Ερωτήσεις

1. Συμπληρώστε με τις σωστές λέξεις τα κενά:  
Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού είναι η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, το ....., το ..... και η .....  
Σε μια μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια μικροοργανισμών χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές, οι .....  
Προϊόντα της ζύμωσης είναι η ..... ή τα .....  
Κατά τη λανθάνουσα φάση ο πληθυσμός των μικροοργανισμών παραμένει .....  
Η φάση που ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται με ταχύ ρυθμό ονομάζεται .....

2. Για την παραλαβή ενός προϊόντος που εκκρίνεται από κύτταρα στρεπτομύκητα ακολουθούνται τα παρακάτω στάδια.

Διαγράψτε εκείνα που είναι λάθος:

- Διαχωρισμός και παραλαβή των κυττάρων του μύκητα
- Διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά
- Παραλαβή των υγρών συστατικών
- Παραλαβή των στερεών συστατικών
- Καθαρισμός του επιθυμητού προϊόντος

3. Στις παρακάτω γραφικές παραστάσεις απεικονίζεται η ανάπτυξη δύο μικροοργανισμών του *Saccharomyces*

και του *Penicillium* και η παραγωγή προϊόντων τους όταν αυτοί καλλιεργηθούν σε βιοαντιδραστήρες. Η καμπύλη Α αφορά την ανάπτυξη του ζυμομύκητα *Saccharomyces* και την παραγωγή αιθανόλης ενώ η καμπύλη Β την ανάπτυξη του μύκητα *Penicillium* και την παραγωγή πενικιλίνης.

- Εξηγήστε τις αλλαγές στην ανάπτυξη του *Saccharomyces* για τα διαστήματα 0-2, 2-6, 8-10 και 12-14 ώρες
- Εντοπίστε τις φάσεις ανάπτυξης του *Saccharomyces* μύκητα σε σχέση με την παραγωγή αιθανόλης
- Εντοπίστε τις φάσεις ανάπτυξης του μύκητα *Penicillium* σε σχέση με την παραγωγή πενικιλίνης.

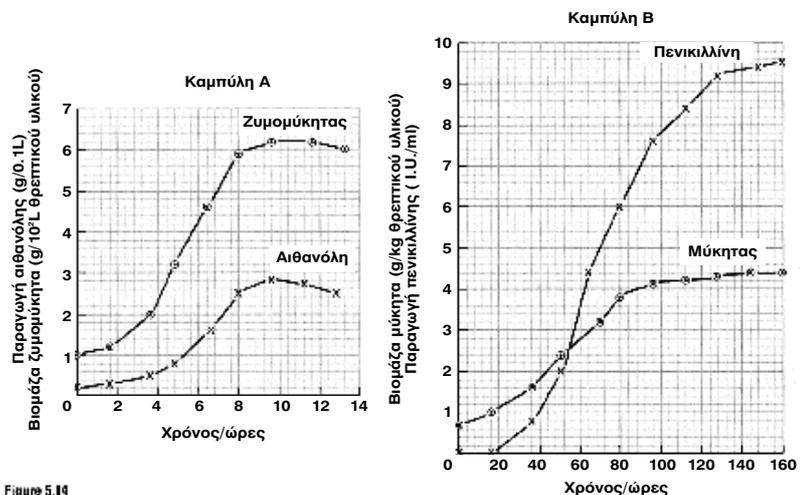


Figure 5.14

4. Ποιές είναι οι συνθήκες που πρέπει να ελέγχονται για την ανάπτυξη μικροοργανισμών σε βιοαντιδραστήρες; Για ποιό λόγο είναι απαραίτητη η διασφάλιση συνθηκών ασηψίας;

5. Στον πίνακα Α υπάρχουν τα αποτελέσματα μετρήσεων του αριθμού βακτηρίων από καλλιέργεια μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό στους 30° C. Χρησιμοποιώντας τα δεδομένα αυτά κατασκευάστε τις καμπύλες μεταβολής του αριθμού σε συνάρτηση με το χρόνο. Εξηγήστε τους παράγοντες που επηρεάζουν το σχήμα των καμπυλών.

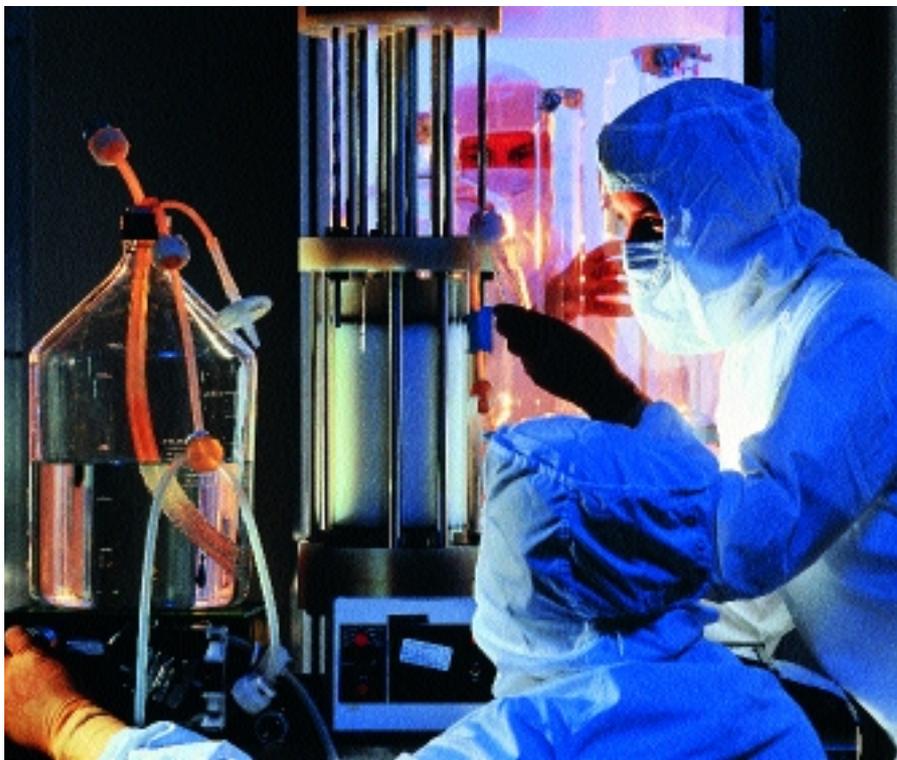
Αριθμός βακτηρίων σε εκατομμύρια	
Χρόνος (ώρες)	Ζωντανά
0	9
1	10
2	11
5	18
10	400
12	550
15	550
20	550
30	550
35	225
45	30

## Βιο... περίπατοι στο Διαδίκτυο (Internet)

Όνομα ιστοσελίδας	Περιγραφή	Διεύθυνση στο Internet
1. <b>Bacteriology Web Site</b>	Συγκεντρωμένη πληροφορία για κάθε τι σχετικό με τα βακτήρια	<a href="http://www.bact.wisc.edu/GenInfo.html">http://www.bact.wisc.edu/GenInfo.html</a>
2. <b>Cells Alive!</b>	Videos, κινούμενα σχέδια και επεξηγηματικά σχόλια σχετικά με την ανάπτυξη των βακτηρίων και την παραγωγή αντισωμάτων	<a href="http://www.cellsalive.com/">http://www.cellsalive.com/</a>
3. <b>Beyond BIO 101</b>	Το Ιατρικό Ινστιτούτο Howard Huges παρουσιάζει τις αλλαγές που έχει επιφέρει η εξέλιξη της Βιοτεχνολογίας, της Μοριακής Βιολογίας και της τεχνολογίας στην εκπαίδευση.	<a href="http://www.hhmi.org/BeyondBio101/">http://www.hhmi.org/BeyondBio101/</a>
4. <b>Bio-Online</b>	Ενας ιδιωτικός κόμβος με πλούσια και πολύ καλά οργανωμένες πληροφορίες γύρω από την σύγχρονη Βιοτεχνολογία, και όχι μόνο...	<a href="http://www.bio.com/">http://www.bio.com/</a>
5. <b>IMBB</b>	Ο κόμβος του Ινστιτούτου Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας στην Κρήτη	<a href="http://www.imbb.forth.gr/">http://www.imbb.forth.gr/</a>
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		

(Προσθέστε επιπλέον διευθύνσεις σχετικές με το θέμα από τις δικές σας εξερευνησεις του κυβερνοχώρου)

# Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στην Ιατρική



Καθαρισμός μονοκλωνικών αντισωμάτων.

κεφάλαιο

8



## 8. Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στην Ιατρική

Η βιοτεχνολογία έχει συμβάλει αποτελεσματικά σε τρεις βασικούς στόχους της Ιατρικής, που είναι η **έγκαιρη διάγνωση** μιας ασθένειας, η **πρόληψη** και η αποτελεσματική **θεραπεία** της.

Η **έγκαιρη διάγνωση** μιας ασθένειας απαιτεί την ανάπτυξη ευαίσθητων τεχνικών, που μπορούν να εντοπίσουν την ασθένεια στα αρχικά της στάδια πριν να εμφανιστούν τα συμπτώματά της στον οργανισμό, να ανιχνεύσουν κάποια μόλυνση από παθογόνους οργανισμούς ή να διαπιστώσουν την ύπαρξη κάποιας κληρονομικής ασθένειας.

Η **πρόληψη** σοβαρών ασθενειών όπως η ηπατίτιδα Β, η πολιομυελίτιδα και η φυματίωση χρειάζονται πιο εξελιγμένα, επαρκώς ασφαλή αλλά και οικονομικά προσιτά εμβόλια. Επίσης η ανάπτυξη εμβολίων για την πρόληψη ασθενειών όπως το AIDS, η μηνιγγίτιδα, και ο καρκίνος είναι πλέον επιτακτική ανάγκη.

Η **ριζική θεραπεία** προϋποθέτει την κατανόηση των βιοχημικών μηχανισμών και του γενετικού υπόβαθρου της ασθένειας, για να εφαρμοστεί η κατάλληλη θεραπεία είτε με φαρμακευτική αγωγή είτε ακόμη και με “γενετική διόρθωση” της βλάβης.

Η βιοτεχνολογία συνεισφέρει ουσιαστικά στους παραπάνω στόχους με την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυσμένου DNA, με τη χρήση της τεχνικής PCR, καθώς και ανιχνευτών DNA. Οι τεχνικές αυτές βρίσκουν εφαρμογή στη βελτίωση και παραγωγή σε ευρεία κλίμακα ευαίσθητων διαγνωστικών ουσιών όπως τα μονοκλωνικά αντισώματα, αποτελεσματικών εμβολίων και φαρμακευτικών προϊόντων. Πρόσφατα, ένας νέος τομέας της βιοτεχνολογίας αναπτύσσεται ταχύτατα, η **γονιδιακή θεραπεία**, που στηρίζεται στη εφαρμογή της τεχνολογίας του ανασυνδυσμένου DNA στη θεραπεία πολλών σοβαρών γενετικών ασθενειών όπως η κυστική ίνωση, η ασθένεια του Alzheimer και διάφοροι τύποι καρκίνου.

### Πλήθος “φαρμακευτικών” πρωτεϊνών συντίθενται από βακτήρια με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής

Πριν από την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυσμένου DNA, οι περισσότερες φαρμακευτικές πρωτεΐνες, δηλαδή πρωτεΐνες που χρησιμοποιούνται για την θεραπεία διαφόρων ασθενειών, ήταν διαθέσιμες σε πολύ μικρές ποσότητες, η παραγωγή τους ήταν πολύ ακριβή και συχνά η βιολογική δράση τους δεν ήταν πλήρως κατανοητή. Η τεχνολογία του ανασυνδυσμένου DNA έδωσε τη δυ-

νατότητα παραγωγής φαρμακευτικών πρωτεϊνών σε σημαντικές ποσότητες, τόσο για τον αποτελεσματικό έλεγχο της δράσης τους όσο και για ευρεία κατανάλωση. Σήμερα

Η βιοτεχνολογία με αριθμούς  
Η ετήσια αγορά των ανασυνδυσμένων φαρμακευτικών προϊόντων έφτανε στα τέλη του 1997 τα 150.000.000.000 δολάρια.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8.1: Φαρμακευτικές πρωτεΐνες που έχουν παραχθεί με την τεχνολογία του ανασυνδυσμένου DNA

Πρωτεΐνη	Χρήση
α <sub>1</sub> -αντιθρυψίνη	Θεραπεία εμφυσήματος
Καλσιτονίνη	Θεραπεία της οστεοπόρωσης
Χοριονική γοναδοτροπίνη	Θεραπεία μη ωρίμανσης ωαρίων
Ενδορφίνες και εγκεφαλίνες	Αναλγητικοί παράγοντες
Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας	Θεραπεία τραυμάτων
Ερυθροποιητίνη	Θεραπεία αναιμίας
Παράγοντας VIII	Θεραπεία αιμορροφιλίας α
Παράγοντας IX	Θεραπεία αιμορροφιλίας β
Αυξητική ορμόνη	Θεραπεία αχονδροπλασίας
Ινσουλίνη	Θεραπεία του διαβήτη
Ιντερφερόνες (α,β,γ)	Αντιικοί και αντικαρκινικοί παράγοντες
Ιντερλευκίνες	Θεραπεία καρκίνου και ασθενειών του ανοσοποιητικού συστήματος
Ενεργοποιητής πλασμινογόνου ιστών (tPA)	Θρομβολυτικός παράγοντας
Παράγοντας νέκρωσης όγκων	Αντικαρκινικός παράγοντας

έχουν κλωνοποιηθεί τα γονίδια του ανθρώπου για περισσότερες από 300 φαρμακευτικές πρωτεΐνες. Στον πίνακα 8.1 αναγράφονται ορισμένες φαρμακευτικές πρωτεΐνες που έχουν παραχθεί με τη τεχνολογία του ανασυνδυσμένου DNA και η χρήση τους.

Μεταξύ των πρώτων μορίων που παρασκευάστηκαν είναι η ινσουλίνη, οι ιντερφερόνες και η αυξητική ορμόνη.

Η **ινσουλίνη** είναι μια ορμόνη, που αποτελείται από 51 αμινοξέα και παράγεται από ειδικά κύτταρα του παγκρέατος. Η ορμόνη αυτή ρυθμίζει το μεταβολισμό των υδατανθράκων και ειδικότερα το ποσοστό της γλυκόζης στο αίμα. Ο διαβήτης είναι μια ασθένεια που χαρακτηρίζεται από έλλειψη ή μείωση ινσουλίνης και υπολογίζεται ότι πάνω από 60.000.000 άτομα στον κόσμο πάσχουν από διαβήτη.

Η ινσουλίνη χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των διαβητικών ατόμων. Πριν από το 1982 οι κύριες πηγές ινσουλίνης ήταν το πάγκρεας από χοίρους και από βοοειδή. Η ινσουλίνη παραγόταν από την εκχύλιση αυτών των ιστών με μια δαπανηρή και πολύπλοκη διαδικασία και επιπλέον, επειδή είχε μικρές διαφορές στη σύσταση των αμινοξέων της από την ανθρώπινη, προκαλούσε αλλεργικές αντιδράσεις.

Η ινσουλίνη αποτελείται από δύο μικρά πεπτιδία, Α και Β, που συγκροτούνται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς. Το γονίδιο της ινσουλίνης παράγει ένα πρόδρομο μόριο, την προΐνσουλίνη, το οποίο μετατρέπεται τελικά σε ινσουλίνη.

Μια από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή της ανθρώπινης ινσουλίνης στα βακτήρια είναι η παραγωγή του πρόδρομου μορίου της σε μια βακτηριακή καλλιέργεια και η μετατροπή της σε ινσουλίνη με ενζυμική κατεργασία (Εικ. 8.1).

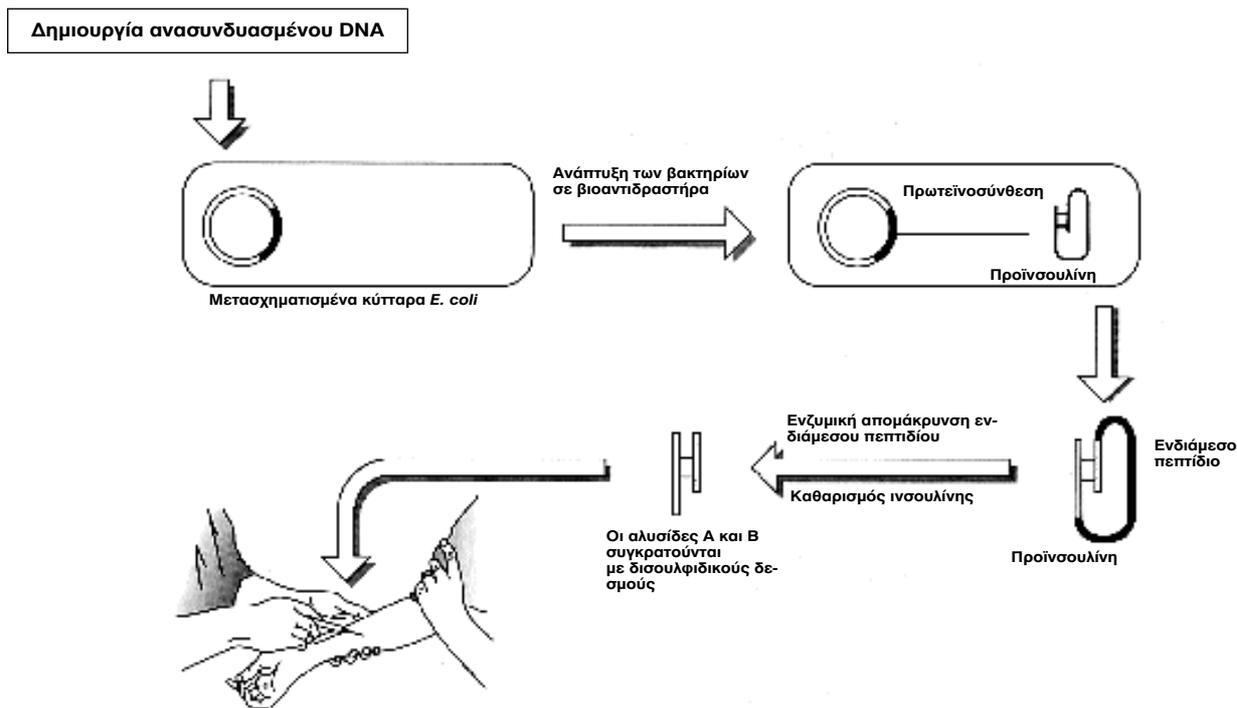
Η μέθοδος περιλαμβάνει την κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης από ατα κύτταρα του παγκρέατος στα οποία εκφράζεται το γονίδιο της ινσουλίνης και την επιλογή του κλώνου που περιέχει το γονίδιο. Συνοπτικά τα στάδια κλωνοποίησης και απομόνωσης του γονιδίου της ινσουλίνης είναι:

- Απομόνωση του συνολικού mRNA, από κύτταρα του ανθρώπινου παγκρέατος.
- Κατασκευή δίκλωνων μορίων DNA και ενσωμάτωσή τους σε πλασμίδια.
- Μετασχηματισμός βακτηρίων με τα ανασυνδυασμένα πλασμίδια και πολλαπλασιασμός τους σε υγρό θρεπτικό υλικό.
- Επιλογή των βακτηρίων που περιέχουν το γονίδιο το

### Δύο άλλες σημαντικές πρωτεΐνες, η αυξητική ορμόνη και η ερυθροποιητίνη παράγονται με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής

Η αυξητική ορμόνη παράγεται στην υπόφυση του ανθρώπου και παίζει σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική ανάπτυξή του. Η απουσία της ορμόνης αυτής οδηγεί σε νανισμό. Επειδή η ανθρώπινη αυξητική ορμόνη είναι πολύ ειδική και δεν μπορεί να αντικατασταθεί από την αντίστοιχη ορμόνη άλλων οργανισμών, απομονωνόταν από εγκεφάλους νεκρών ανθρώπων. Μετά το 1985 η αυξητική ορμόνη παράγεται με τις τεχνικές του ανασυνδυασμένου DNA όπως η ινσουλίνη και οι ιντερφερόνες. Πιστεύεται ότι η αυξητική ορμόνη θα έχει ευρεία εφαρμογή για τη θεραπεία τραυμάτων, σπασμένων οστών, καμένων ιστών και επίσης για την καθυστέρηση της απώλειας της μυϊκής μάζας, που συμβαίνει προοδευτικά κατά τη γήρανση του οργανισμού. Με τις ίδιες τεχνικές το 1989 παρασκευάστηκε η ερυθροποιητίνη, μια ορμόνη που παράγεται στους νεφρούς και μέσω της κυκλοφορίας του αίματος μεταφέρεται στο μυελό των οστών όπου επάγει την παραγωγή των κυττάρων του αίματος. Η ερυθροποιητίνη μπορεί να βοηθήσει στη θεραπεία ορισμένων αναιμιών.

Εικόνα 8.1. Διαδικασία παραγωγής ινσουλίνης με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής.



οποίο κωδικοποιεί το πρόδρομο μόριο της ινσουλίνης.

- Ανάπτυξη των βακτηρίων αυτών σε βιοαντιδραστήρα για παραγωγή του πρόδρομου μορίου της ινσουλίνης. Η προΐνσουλίνη συλλέγεται και με κατάλληλο ένζυμο, που αφαιρεί το ενδιάμεσο πεπτίδιο, μετατρέπεται σε ινσουλίνη.

Οι **ιντερφερόνες** είναι αντιικές πρωτεΐνες, που παράγονται από κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιούς. Οι πρωτεΐνες αυτές, επάγουν την παράγωγή άλλων πρωτεϊνών από τα γειτονικά υγιή κύτταρα οι οποίες εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των ιών σ' αυτά. Οι ιντερφερόνες είναι οικογένεια συγγενών πρωτεϊνών, που ταξινομούνται ανάλογα με τη χημική και βιολογική ενεργότητα τους σε τρεις ομάδες: τις ιντερφερόνες α, β και γ.

Οι ιντερφερόνες έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως αντιικοί και πιθανόν ως αντικαρκινικοί παράγοντες. Παράγονται σε ελάχιστες ποσότητες στο σώμα και γι' αυτό δεν ήταν η ευρεία χρήση τους στη θεραπεία ασθενειών. Όμως, μετά την κλωνοποίηση ορισμένων γονιδίων ιντερφερονών, είναι σήμερα δυνατή η παραγωγή τους σε μεγάλες ποσότητες.

Η μέθοδος παράγωγής μιας ιντερφερόνης είναι παρόμοια με τη μέθοδο παραγωγής του πρόδρομου μορίου της ινσουλίνης. Η απομόνωση του mRNA της ιντερφερόνης έγινε από κύτταρα τα οποία είχαν διεγερθεί, για να παραγάγουν ιντερφερόνες. Η κατασκευή του cDNA και η κλωνοποίησή του έγινε με τη διαδικασία που αναφέρθηκε προηγουμένως.

## Μονοκλωνικά αντισώματα

“Το ιδανικό φάρμακο”, είπε ο πρωτοπόρος Γερμανός γιατρός Ehrlich, “πρέπει να μπορεί να εξουδετερώνει τις μολύνσεις χωρίς να προκαλεί παρενέργειες στον οργανισμό”. Η φύση έχει φτιάξει ένα τέλειο “φάρμακο”, τα αντισώματα.

Τα αντισώματα είναι πρωτεϊνικά μόρια, που παράγονται από τα Β-λεμφοκύτταρα του ανοσοποιητικού μας συστήματος, όταν ένα αντιγόνο (παθογόνος μικροοργανισμός, ιός ή ξένο υλικό) προσβάλει τον οργανισμό. Τα αντισώματα αντιδρούν με το αντιγόνο και το εξουδετερώνουν.

Ο οργανισμός μας είναι ικανός να παράγει αντισώματα εναντίον κάθε ξένου αντιγόνου. Στην πραγματικότητα, ένα αντίσωμα αναγνωρίζει μια περιοχή μόνο του αντιγόνου, η οποία ονομάζεται **αντιγονικός καθοριστής**. Ένα μεγάλο αντιγόνο, π.χ. ένας μικροοργανισμός, έχει πολλούς αντιγονικούς καθοριστές γι' αυτό παράγονται πολλά είδη αντισωμάτων εναντίον του.

Κάθε είδος αντισώματος που αναγνωρίζει έναν αντιγονικό καθοριστή παράγεται από μια ομάδα όμοιων Β-λεμφοκυττάρων, που αποτελούν έναν κλώνο. Το αντίσωμα

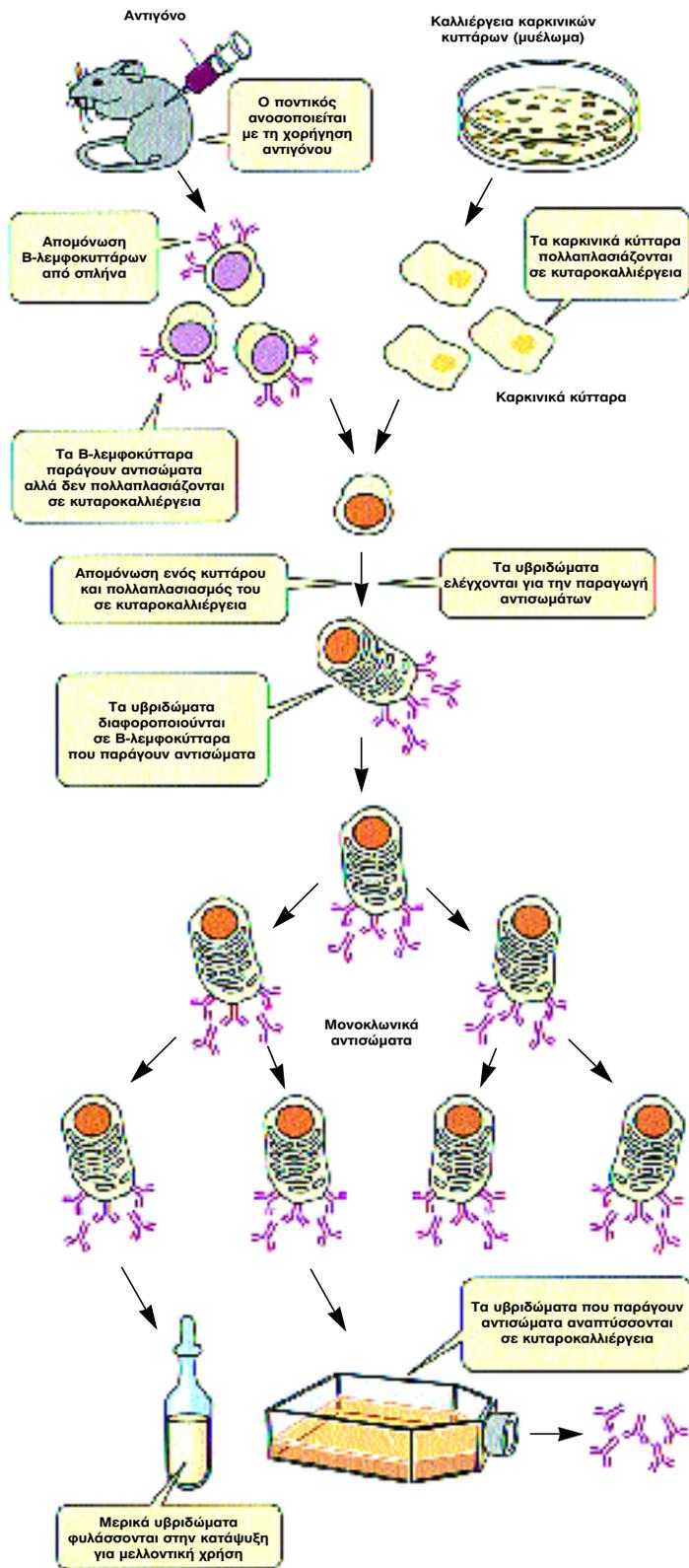
που παράγεται από ένα κλώνο Β-λεμφοκυττάρων ονομάζεται **μονοκλωνικό**.

Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι πολύ σημαντικά στην Ιατρική και χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικά για την ανίχνευση ασθενειών ή ως εξειδικευμένα φάρμακα εναντίον ασθενειών που προκαλούνται από παθογόνους ιούς ή ακόμα εναντίον καρκινικών κυττάρων. Ήταν, επομένως, σημαντικό να γίνει δυνατή η παραγωγή τους στο εργαστήριο σε μεγάλες ποσότητες. Όμως τα Β-λεμφοκύτταρα δεν επιβιώνουν για πολύ έξω από το σώμα και δεν μπορούν να διατηρηθούν σε κυτταροκαλλιέργειες. Την ιδιότητα αυτή την αποκτούν ύστερα από σύντηξη με καρκινικά κύτταρα. Τα υβριδικά κύτταρα που παράγονται ονομάζονται **υβριδώματα** και μπορούν να παράγουν μεγάλες ποσότητες ενός μονοκλωνικού αντισώματος. Η τεχνική της παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων αναπτύχθηκε το 1975 και ακολουθεί την εξής διαδικασία:

Ένα επιλεγμένο αντιγόνο χορηγείται με ένεση σε ποντίκι και προκαλεί ανοσολογική αντίδραση με αποτέλεσμα να αρχίσει η παραγωγή αντισωμάτων από εξειδικευμένα Β-λεμφοκύτταρα. Υστερα από δύο εβδομάδες αφαιρείται ο σπλήνας και απομονώνονται τα Β-λεμφοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά συντήκονται με καρκινικά κύτταρα και παράγονται τα υβριδώματα που παράγουν μονοκλωνικά αντισώματα. Τα υβριδώματα μπορούν να φυλάσσονται για μεγάλα χρονικά διαστήματα στην κατάψυξη (-80° C) και να παράγουν οποιαδήποτε στιγμή το συγκεκριμένο μονοκλωνικό αντίσωμα σε μεγάλες ποσότητες (Εικόνα 8.2).

Τα μονοκλωνικά αντισώματα έχουν πολυάριθμες εφαρμογές και λειτουργούν ως:

- **Ανοσοδιαγνωστικά.** Τα μονοκλωνικά αντισώματα επειδή αναγνωρίζουν ειδικά έναν αντιγονικό καθοριστή, είναι πολύ χρήσιμα ως ανοσοδιαγνωστικά. Μπορούν να ανιχνεύσουν στα υγρά του σώματος (αίμα, ούρα κ.ά.) ουσίες που είναι υπεύθυνες για ποικίλες ασθένειες, παθογόνους μικροοργανισμούς, καθώς και τη διακύμανση της συγκέντρωσης διάφορων προϊόντων του μεταβολισμού, η οποία μπορεί να προοιωνίζει την πιθανότητα εμφάνισης κάποιας ασθένειας. Η τεχνική ανίχνευσης είναι γρήγορη, απλή, ευαίσθητη, ακριβής και επιτρέπει τη διάγνωση ασθενειών στα πολύ αρχικά στάδιά τους δηλαδή πριν εμφανιστούν τα συμπτώματα. Τα αντισώματα θα συνεισφέρουν σημαντικά στην αύξηση της ευαισθησίας κλινικών δοκιμασιών όπως η τυποποίηση των ομάδων αίματος και η εξακρίβωση μιας πιθανής κύησης. Στην τελευταία περίπτωση έχουν κατασκευαστεί ειδικά ανοσοδιαγνωστικά τεστ, τα οποία περιέχουν μονοκλωνικά αντισώματα για ειδικές ορμόνες που παράγονται κατά την κύηση.
- **Θεραπευτικά.** Τα αντισώματα μπορούν να χρησιμο-



Εικόνα 8.2. Δημιουργία υβριδωμάτων για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων.

ποιηθούν ως θεραπευτικά. Η πιο ενδιαφέρουσα εφαρμογή τους αφορά τη θεραπεία του καρκίνου. Τα καρκινικά κύτταρα έχουν στην εξωτερική επιφάνειά τους μεγάλη ποικιλία αντιγόνων που δεν υπάρχουν στα φυσιολογικά κύτταρα του οργανισμού, και ονομάζονται καρκινικά αντιγόνα. Έτσι μπορούν να κατασκευαστούν μονοκλωνικά αντισώματα εναντίον αυτών των αντιγόνων. Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι πολύ ειδικά μόνο για τα καρκινικά κύτταρα και μπορούν να “γίνουν μεταφορείς” ισχυρών αντικαρκινικών φαρμάκων. Όταν εισαχθούν στον οργανισμό, βρίσκουν και προσβάλλουν τους καρκίνους-στόχους. Τα αντικαρκινικά φάρμακα, που είναι συνδεδεμένα με τα αντισώματα, δρουν κατευθείαν στα καρκινικά κύτταρα και τα καταστρέφουν. Επιτρέπουν έτσι τη θεραπεία με αποφυγή της χειρουργικής επέμβασης και των δυσάρεστων επιπτώσεων της χημειοθεραπείας.

- **Για την επιλογή οργάνων συμβατών για μεταμόσχευση.** Τα κύτταρα των οργάνων έχουν στην επιφάνειά τους ειδικά αντιγόνα επιφανείας, που αναγνωρίζονται από ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα. Με τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορεί να γίνει έλεγχος των οργάνων δωρητών, για να διαπιστωθεί αν ταιριάζουν ανοσολογικά με τα αντίστοιχα των ασθενών. Έτσι, είναι δυνατόν να αποφευχθεί η απόρριψη και οι μεταμοσχεύσεις να είναι επιτυχείς.

Η ανάπτυξη και παραγωγή αντισωμάτων βρίσκεται ήδη σε άνθηση. Τα αντισώματα πρώτης γενιάς ήταν τα απλά μονοκλωνικά αντισώματα. Τα αντισώματα δεύτερης γενιάς ήταν αντισώματα συνδεδεμένα με αντικαρκινικά φάρμακα, με ραδιενεργά ισότοπα, και με άλλα χρήσιμα χημικά. Τα αντισώματα τελευταίας γενιάς είναι γενετικά τροποποιημένα υβριδικά μόρια, που αποτελούνται από τμήματα αντισωμάτων και άλλων πρωτεϊνικών μορίων. Στόχος των υβριδικών αντισωμάτων είναι να βελτιώσουν διάφορα είδη θεραπειών, όπως είναι ο εντοπισμός και η καταστροφή καρκινικών κυττάρων, η διεύθυνση σε καρκινικούς ιστούς και η απομάκρυνση άχρηστων υλικών από την κυκλοφορία του αίματος.

### Και άλλες εφαρμογές των αντισωμάτων

**Ανιχνευτές.** Η εξέλιξη μιας ασθένειας ή η πρόοδος της θεραπείας της μπορεί να ελεγχθεί με τη βοήθεια των μονοκλωνικών αντισωμάτων. Οι χειρουργοί συνδέουν ραδιενεργά ισότοπα με αντισώματα τα εισάγουν στον οργανισμό και ανιχνεύουν τη θέση των ραδιενεργών ισωτόπων στο σώμα. Η τεχνική αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί, για να προσδιοριστεί με ακρίβεια σε ποιο σημείο του σώματος υπάρχει ένας θρόμβος ή κάποιος όγκος.

**Έλεγχος της καθαρότητας φαρμάκων.** Επειδή τα μονοκλωνικά αντισώματα προσδένονται με πολύ μεγάλη εξειδίκευση σε μια χημική ουσία, μπορούν να βοηθήσουν στον καθαρισμό της από πολύπλοκα μείγματα. Με αυτό το τρόπο μπορούν να καθαριστούν πολύτιμες ουσίες που βρίσκονται σε απειροελάχιστη ποσότητα σε ένα μείγμα. Η τεχνική αυτή βοήθησε στο να γίνει η ιντερφερόνη ευρέως διαθέσιμη.

## Εμβόλια

Τα εμβόλια αποτελούνται από νεκρές ή από εξασθενημένες μορφές ενός παθογόνου οργανισμού. Για το σκοπό αυτό, ο παθογόνος οργανισμός αναπτύσσεται σε κυτταροκαλλιέργεια, απομονώνεται και είτε νεκρώνεται είτε ανενεργοποιείται (γίνεται μη μολυσματικός), χωρίς βέβαια να χάνει την ικανότητά του να προκαλεί ενεργητική ανοσία. Μολονότι έχουν παραχθεί αποτελεσματικά εμβόλια για μια σειρά από ασθένειες όπως η διφθερίτιδα, ο τέτανος, η ευλογιά και η πολιομυελίτιδα, υπάρχουν πολλά μειονεκτήματα στην παραγωγή εμβολίων με τον παραπάνω τρόπο. Τα μειονεκτήματα αυτά είναι:

- Δεν μπορούν όλοι οι μολυσματικοί παράγοντες να αναπτυχθούν σε κυτταροκαλλιέργεια και έτσι δεν έχουν αναπτυχθεί εμβόλια για πολλές ασθένειες.
- Ορισμένοι ζωικοί ιοί αναπτύσσονται με αργό ρυθμό σε κυτταροκαλλιέργειες και συνεπώς η απόδοσή τους είναι πολύ χαμηλή, άρα και τα εμβόλια γίνονται πολύ ακριβά.
- Χρειάζονται μεγάλες προφυλάξεις, για να μην εκτεθεί το προσωπικό που κατασκευάζει τα εμβόλια στον παθογόνο παράγοντα.
- Δεν είναι όλα τα εμβόλια αποτελεσματικά για μια ασθένεια π.χ. για τον ιό του AIDS γίνονται συνεχείς ανεπιτυχείς προσπάθειες κατασκευής εμβολίου.

Την τελευταία δεκαετία η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA έδωσε τη δυνατότητα ανάπτυξης μιας νέας γενιάς εμβολίων, που υπερνικούν τα μειονεκτήματα των παραδοσιακών. Η κλωνοποίηση των γονιδίων έδωσε τη

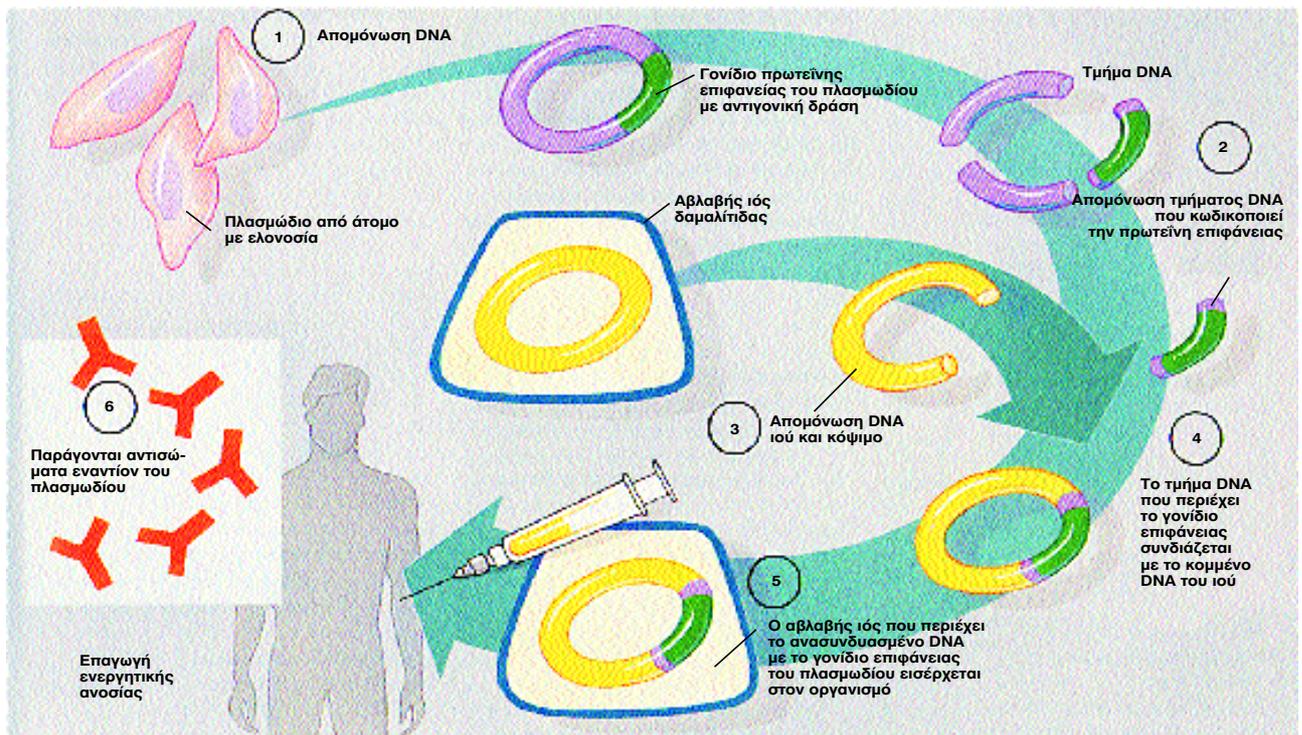
δυνατότητα ανάπτυξης νέων στρατηγικών για την πρόκληση ισχυρής ενεργητικής ανοσίας εναντίον του παθογόνου παράγοντα. Τα σημαντικότερα είδη εμβολίων που παράγονται με βιοτεχνολογικές μεθόδους είναι τα **εμβόλια - υπομονάδες**, εμβόλια από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς και εμβόλια γυμνού DNA.

Η παραγωγή των εμβολίων υπομονάδων σπηρίχθηκε στο γεγονός ότι όλα τα συστατικά ενός παθογόνου οργανισμού δεν είναι απαραίτητα για την πρόκληση της ανοσολογικής αντίδρασης στον οργανισμό που θα προσβάλουν. Συνήθως, μόνο ορισμένες πρωτεΐνες επιφάνειας έχουν αντιγονική ιδιότητα. Τα εμβόλια-υπομονάδες σπηρίζονται στην παραγωγή μόνο αυτών των συστατικών. Έτσι, γονίδια του παθογόνου οργανισμού που κωδικοποιούν την πρωτεΐνη με την αντιγονική δράση εισάγονται σε κυτταροκαλλιέργειες και παράγουν την πρωτεΐνη αυτή σε μεγάλες ποσότητες. Στη συνέχεια, η πρωτεΐνη καθαρίζεται και χρησιμοποιείται ως εμβόλιο. Τα εμβόλια -υπομονάδες χρησιμοποιούνται για τον εμβολιασμό εναντίον του ιού της ηπατίτιδας-B.

Ένας άλλος τύπος εμβολίων είναι τα εμβόλια από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς. Στην περίπτωση αυτή γονίδια από επικίνδυνο ιό ή άλλο μικροοργανισμό ενσωματώνονται σε άλλο ιό, που είναι αβλαβής για τον άνθρωπο, όπως ο ιός της δαμαλίτιδας. Ο γενετικά τροποποιημένος ιός που προκύπτει εξακολουθεί να είναι αβλαβής, αλλά επειδή παράγει την αντιγονική πρωτεΐνη του ιού ή του μικροοργανισμού, εισάγεται στο σώμα και προκαλεί έντονη ανοσολογική αντίδραση. Τέτοιου τύπου εμβόλιο κατασκευάστηκε εναντίον του πλασμοδίου που προκαλεί την ελονοσία (Εικόνα 8.3).

### Εμβόλια γυμνού DNA

Ένας τύπος εμβολίου μπορεί να είναι το ίδιο το DNA. Στη συγκεκριμένη περίπτωση το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη με αντιγονική δράση εισάγεται κατευθείαν στον οργανισμό που πρόκειται να ανοσοποιηθεί. Το γονίδιο ενσωματώνεται στο γονιδίωμα και παράγει το αντιγόνο, το οποίο με τη σειρά του προκαλεί ενεργητική ανοσία στον οργανισμό. Η τεχνική εφαρμόστηκε πειραματικά σε ποντίκι. Η ενσωμάτωση είχε επιτυχία 75%. Υστερα από τις απαραίτητες δοκιμασίες η τεχνική υπόσχεται πολλά για τον εμβολιασμό των οικόσπιτων ζώων.



Εικόνα 8.3. Παραγωγή εμβολίου από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς για την πρόληψη της ελονοσίας.

## Αντιβιοτικά

Τα αντιβιοτικά είναι χημικές ουσίες που παράγονται από μικροοργανισμούς και θανατώνουν άλλους μικροοργανισμούς ή αναστέλλουν την ανάπτυξή τους. Είναι προϊόντα του μεταβολισμού τους και σήμερα ορισμένα από αυτά παράγονται σε μεγάλες ποσότητες σε βιοαντιδραστήρες. Πολλά αντιβιοτικά μπορούν να συντεθούν και χημικά, αλλά η διαδικασία είναι τόσο ακριβή και επίπονη που δεν μπορεί να συγκριθεί σε κόστος με τη μικροβιακή παραγωγή. Η παγκόσμια χρήση των αντιβιοτικών για την καταπολέμηση των μικροβίων έχει βελτιώσει σημαντικά την υγεία των ανθρώπων και αναμφίβολα έχει σώσει εκατομμύρια ανθρώπινες ζωές

Εως σήμερα έχουν απομονωθεί από διάφορους μικροοργανισμούς, περισσότερα από 8.000 αντιβιοτικά με ποικίλους τρόπους δράσης. Η πλειονότητα των πιο σημαντικών αντιβιοτικών έχουν απομονωθεί από το βακτήριο του εδάφους, γένους *Streptomyces*, μολονότι και άλλα βακτήρια καθώς και μύκητες είναι πηγές αντιβιοτικών.

Υπολογίζεται ότι αρκετές εκατοντάδες νέα αντιβιοτικά ανακαλύπτονται κάθε χρόνο ύστερα από εντατική έρευνα κατά την οποία ελέγχονται πολλές χιλιάδες διαφορετικοί μικροοργανισμοί, για να βρεθούν εκείνοι που παράγουν νέα αντιβιοτικά.

Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA άρχισε πρόσφατα να εφαρμόζεται με στόχο:

- Την κλωνοποίηση όλων των γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα απαραίτητα για τη βιοσύνθεση ενός αντιβιοτικού
- Την ανάπτυξη αντιβιοτικών με ισχυρότερη δράση εναντίον ορισμένων μικροβίων και με λιγότερες παρενέργειες και
- Την κατασκευή γενετικά τροποποιημένων μικροοργανισμών με στόχο τη μεγαλύτερη απόδοση στην παραγωγή αντιβιοτικών.

## Γονιδιακή θεραπεία

Περισσότερες από 4.000 ασθένειες οφείλονται σε γονιδιακές μεταλλάξεις και πολλές από αυτές εμφανίζονται στις μεγάλες ηλικίες. Μερικές οφείλονται σε ένα μόνο γονίδιο, άλλες σε αλληλεπίδραση δύο ή περισσότερων γονιδίων και ακόμη περισσότερες σε συνδυασμό γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων όπως η ακτινοβολία και οι χημικές ουσίες. Όλες σχεδόν οι γενετικές ασθένειες προκαλούν δυσμορφίες, το 80% όλων διανοητική καθυστέρηση και το ένα πέμπτο από αυτές θάνατο στην παιδική ηλικία.

Εως πρόσφατα η μοριακή βάση των ασθενειών αυτών δεν ήταν γνωστή. Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA σε συνδυασμό με τις μεθόδους της παραδοσιακής γενετικής (γενεαλογικά δένδρα) οδήγησε στον εντοπισμό της θέσης στα χρωμοσώματα (χαρτογράφηση) πολλών μεταλλαγμένων γονιδίων, που προκαλούν τις αντίστοιχες α-

ασθένειες. Επιπλέον ορισμένα μεταλλαγμένα γονίδια κλωνοποιήθηκαν και συγκρίθηκαν με τα φυσιολογικά αλληλόμορφα τους, για να εξακριβωθεί το είδος των μεταλλάξεων. Η χαρτογράφηση όλων των γονιδίων στα χρωμοσώματα είναι ένας από τους κύριους στόχους του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος, όπως θα αναφερθεί παρακάτω. Σήμερα έχουν χαρτογραφηθεί και κλωνοποιηθεί τα γονίδια των οποίων οι μεταλλάξεις είναι υπεύθυνες για ασθένειες όπως η κυστική ίνωση, η ασθένεια του Huntington και η μυϊκή δυστροφία Duchenne.

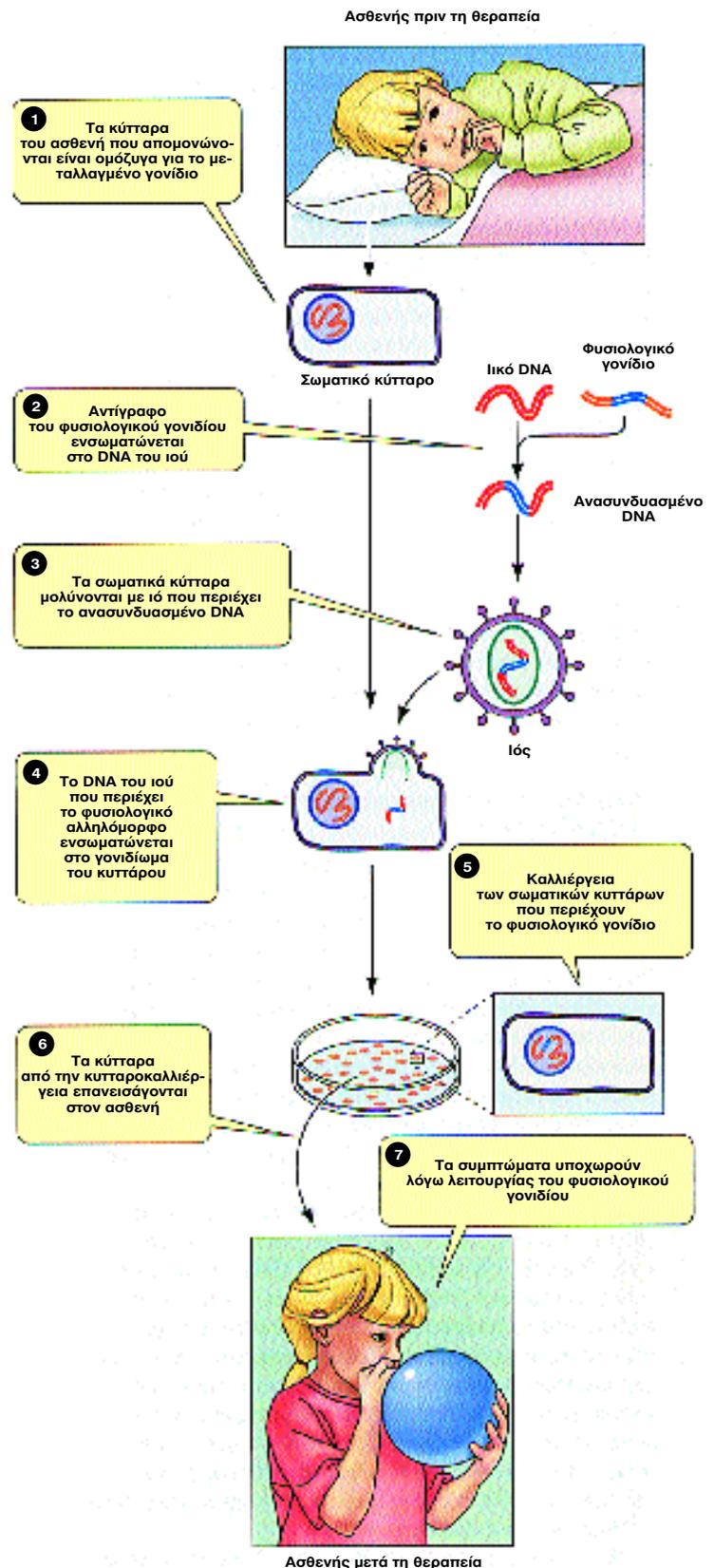
Οι γνώσεις αυτές έδωσαν την δυνατότητα ανάπτυξης θεραπειάς που στηρίζεται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA και ονομάζεται **γονιδιακή θεραπεία**. Αυτή έχει ως στόχο να “διορθώσει” τη γενετική βλάβη εισάγοντας στους ασθενείς φυσιολογικά αλληλόμορφα του μεταλλαγμένου γονιδίου. Απαραίτητη προϋπόθεση για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας είναι, εκτός από την κλωνοποίηση του υπεύθυνου γονιδίου, και ο προσδιορισμός των κυττάρων που εμφανίζουν τη βλάβη από την ασθένεια.

Η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το Σεπτέμβριο του 1990 σε ένα τετράχρονο κορίτσι που έπασχε από ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος. Η ασθένεια αυτή οφείλεται στην έλλειψη του ενζύμου **απαμινάση της αδενοσίνης (ADA)**, που παίρνει μέρος στον μεταβολισμό των πουρινών στα κύτταρα του μυελού των οστών. Η έλλειψη οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου που παράγει το ένζυμο αυτό. Η ασθένεια εμφανίζει αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Οι ασθενείς πάσχουν από χρόνιες μολύνσεις, έχουν προδιάθεση για ανάπτυξη καρκίνου σε πολύ μικρή ηλικία και πολλοί πεθαίνουν ύστερα από λίγους μήνες ζωής. Είναι γνωστή η περίπτωση ενός παιδιού που έζησε εννέα χρόνια σε έναν πλαστικό θάλαμο, για να εμποδιστεί η επαφή του με ιούς, επειδή το ανοσοποιητικό του σύστημα δεν μπορούσε να τους καταπολεμήσει.

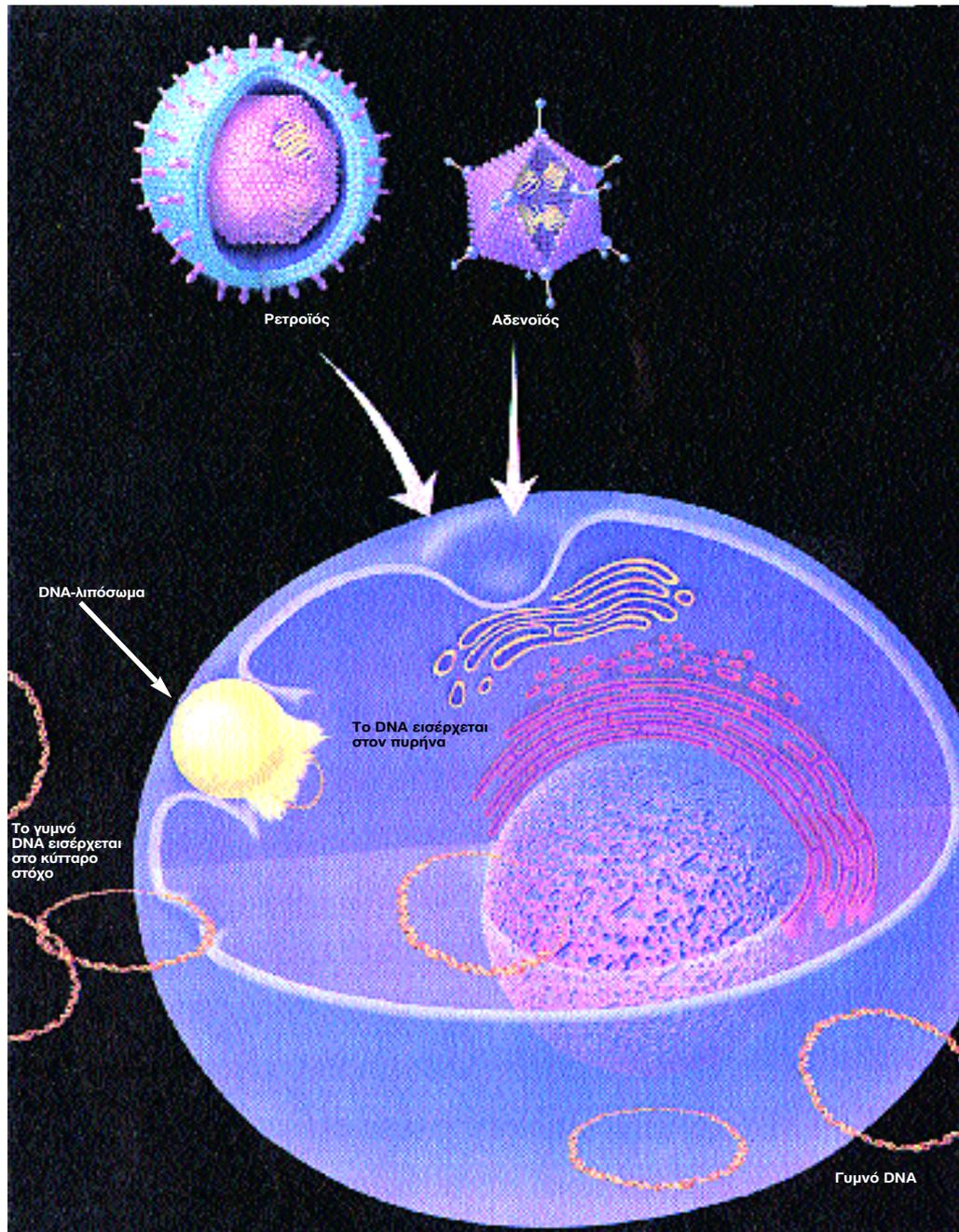
Η διαδικασία που ακολουθείται στη γονιδιακή θεραπεία της ADA ήταν η εξής:

- Λεμφοκύτταρα του κοριτσιού παραλαμβάνονται και πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργειες.
- Το φυσιολογικό γονίδιο της απαμινάσης της αδενοσίνης ενσωματώνεται σε ένα φορέα-ιό (ο οποίος έχει καταστεί αβλαβής) με τις τεχνικές του ανασυνδυασμένου DNA.
- Ο γενετικά τροποποιημένος ιός εισάγεται στα λεμφοκύτταρα με μια διαδικασία που ονομάζεται **διαμόλυνση**.
- Τα γενετικά τροποποιημένα λεμφοκύτταρα εισάγονται με ενδοφλέβια ένεση στο παιδί και παράγουν το ένζυμο ADA (Εικόνα 8.4).

Βέβαια τα τροποποιημένα λεμφοκύτταρα δε ζουν για πάντα μέσα στον οργανισμό-δηλαδή η θεραπεία δεν είναι μόνιμη-και χρειάζεται συνεχής έγχυση τέτοιων κυττάρων. Όμως, όπως στην περίπτωση των διαβητικών, τα άτομα μπορούν να ζουν φυσιολογικά, κάνοντας σε κανονικά



Εικόνα 8.4. Ex vivo γονιδιακή θεραπεία.



Εικόνα 8.5. Γονιδιακή θεραπεία *in vivo*. Το φυσιολογικό γονίδιο μπορεί να εισέλθει στα κύτταρα του ιστού που εμφανίζει τη βλάβη, μέσω ιών, λιποσωμάτων και με τη μορφή “γυμνού DNA”.

χρονικά διαστήματα αυτή τη θεραπεία.

Ο τύπος αυτός της γονιδιακής θεραπείας ονομάζεται *ex vivo*, γιατί τα κύτταρα τροποποιούνται έξω από τον οργανισμό και εισάγονται πάλι σ’ αυτόν.

Τα κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος μπορούν να τροποποιούνται γενετικά, να αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργειες και να εισάγονται με ενδοφλέβια ένεση στον οργανισμό. Τι γίνεται όμως αν πρέπει να τροποποιηθούν κύτταρα ενός άλλου οργάνου όπως ο πνεύ-

μονας; Ο Anderson και οι συνεργάτες του πρότειναν μια άλλη προσέγγιση. Ανέπτυξαν “έξυπνους” φορείς, οι οποίοι προσβάλλουν ειδικά τα κύτταρα του ιστού που πάσχει. Συγκεκριμένα, τα φυσιολογικά γονίδια ενσωματώνονται σε μόρια -φορείς, όπως αδενοϊοί και εισάγονται κατευθείαν στον οργανισμό. Το είδος αυτό της γονιδιακής θεραπείας ονομάζεται *in vivo* και εφαρμόστηκε για τη θεραπεία της κυστικής ίνωσης το 1993..

Η κυστική ίνωση οφείλεται σε μεταλλάξεις ενός γονι-

δίου, το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη, η οποία διευκολύνει τη μεταφορά ιόντων διά μέσου των επιθηλιακών κυττάρων του πνεύμονα. Η ασθένεια παρουσιάζει υπολειπόμενη αυτοσωμική κληρονομικότητα και επηρεάζει πρωτίστως τη λειτουργία των πνευμόνων.

Το φυσιολογικό γονίδιο, ενσωματώθηκε αρχικά σε έναν αδενοϊό. Ο ανασυνδυασμένος ιός εισήλθε στον οργανισμό με ψεκάσμο με τη βοήθεια βρογχοσκοπίου και μόλυψε τα κύτταρα του αναπνευστικού συστήματος. Μετά την εισαγωγή του στα κύτταρα το φυσιολογικό γονίδιο ενσωματώθηκε στο γονιδίωμά τους και παρήγαγε το φυσιολογικό προϊόν (Εικόνα 8.5)

Έως πρόσφατα η πιθανότητα επιτυχούς γονιδιακής θεραπείας ανήκε στη σφαίρα της επιστημονικής φαντασίας. Με τον προσδιορισμό γονιδίων που είναι υπεύθυνα για γενετικές ασθένειες και την εύρεση της αλληλουχίας τους δημιουργούνται νέες προοπτικές για τη γονιδιακή θεραπεία πολλών ασθενειών. Είναι βασικό να τονιστεί ότι παρόλο που η γονιδιακή θεραπεία παρουσιάζεται ως πανάκεια στην Ιατρική, η εφαρμογή της, τουλάχιστον στο άμεσο μέλλον, θα είναι περιορισμένη επειδή δεν έχουν ακόμη ξεπεραστεί προβλήματα όπως αυτά που αφορούν τη χρήση των φορέων. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, στις περισσότερες περιπτώσεις ως φορείς χρησιμοποιούνται ιοί οι οποίοι αν και καθίστανται αβλαβείς, έχουν μικρή πιθανότητα να προκαλέσουν παρενέργειες και σε ορισμένες περιπτώσεις καρκίνο. Έτσι λοιπόν η ανάπτυξη πιο κατάλληλων φορέων είναι ο επόμενος στόχος για τη βελτίωση των μεθόδων της γονιδιακής θεραπείας.

Με τις μεθόδους της γονιδιακής θεραπείας δε γίνεται

αντικατάσταση του μεταλλαγμένου γονιδίου σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού αλλά ενσωμάτωση του φυσιολογικού αντιγράφου του στο γονιδίωμα ορισμένων σωματικών κυττάρων. Συνεπώς δεν μεταβιβάζεται στους απογόνους. Η γονιδιακή θεραπεία στα γεννητικά κύτταρα ασθενών θα προκαλούσε σοβαρότατα ηθικά προβλήματα, όπως θα αναπτυχθεί στο κεφάλαιο της Βιοηθικής.

## Το πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος

Όπως έχει αναφερθεί, το ανθρώπινο γονιδίωμα αποτελείται από  $3 \times 10^9$  ζεύγη βάσεων DNA, το οποίο κατανέμεται σε χρωμοσώματα. Η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας βάσεων του DNA πιστεύεται ότι θα μας βοηθήσει να κατανοήσουμε πώς έχει “κατασκευαστεί” και λειτουργεί ο ανθρώπινος οργανισμός. Για το σκοπό αυτό το 1986 ξεκίνησε μία διεθνής συνεργασία με σκοπό τη χαρτογράφηση, δηλαδή τον εντοπισμό της θέσης των γονιδίων στα χρωμοσώματα, και τον προσδιορισμό της αλληλουχίας των βάσεων του DNA στο ανθρώπινο γονιδίωμα. Το πρόγραμμα, που φυσικά απαιτούσε τη συμβολή πολλών ερευνητών και γενναία χρηματοδότηση, ξεκίνησε το 1990 υπό την αιγίδα του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας και του Τμήματος Ατομικής Ενέργειας των Η.Π.Α. Αρχικά υπήρχε η εκτίμηση ότι το πρόγραμμα θα ολοκληρωνόταν το 2005, όμως καινούρια στοιχεία δείχνουν ότι θα έχει ολοκληρωθεί το 2003.

### Έλεγχος φαρμακευτικών προϊόντων και μεθόδων θεραπείας ασθενειών

Όλα τα νέα προϊόντα και οι τεχνολογίες που εφαρμόζονται στον άνθρωπο περνούν από τέσσερις φάσεις ελέγχου, η καθεμία από τις οποίες διαρκεί δύο έτη. Οι φάσεις αυτές είναι οι εξής:

- Προκλινικές δοκιμές με πειράματα *in vitro* και σε πειραματόζωα
- Δοκιμές φάσης I, όπου γίνεται έλεγχος σε μικρό αριθμό εθελοντών (6-10 άτομα)
- Δοκιμές φάσης II, όπου γίνεται έλεγχος σε μεγάλο αριθμό εθελοντών
- Δοκιμές φάσης III, όπου γίνεται έλεγχος σε πολύ μεγαλύτερο αριθμό εθελοντών, για να ακολουθήσει στατιστική μελέτη των πιθανών παρενεργειών κ.ά.

Συνολικά, ο έλεγχος διαρκεί περισσότερο από οκτώ χρόνια για να διαπιστωθεί αν αξίζει η εφαρμογή του φαρμάκου ή της μεθόδου σε ευρεία κλίμακα.

### Εισαγωγή γονιδίων στον άνθρωπο

Η επίσημη άδεια για εισαγωγή γενετικά τροποποιημένων κυττάρων στους ανθρώπους δόθηκε ύστερα από αρκετές διαδικασίες από το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας (NIH) και την Διεύθυνση Διατροφής και φαρμάκων (FDA). Την απόφαση πήρε η Συμβουλευτική επιτροπή του ανασυνδυασμένου DNA (DNA advisory Committee RAC) στις 3 Οκτωβρίου 1988 με ψήφους 16:5, κυρίως για λόγους συναισθηματικούς, «επειδή ένας άνθρωπος που πάσχει από καρκίνο δεν μπορεί να πάθει τίποτε χειρότερο».

Ο ασθενής που επιλέχθηκε, για να δεχτεί γενετικά τροποποιημένα κύτταρα ήταν 52 ετών, που έπασχε από κακώγηδες μελάνωμα, μια θανατηφόρο μορφή καρκίνου, που είχε κάνει μετάσταση στο ήπαρ. Η πρόγνωση ήταν δύο μήνες ζωής. Φυσικά δεν έγινε κανένα θαύμα, μολονότι ο ασθενής έζησε σχεδόν ένα χρόνο μετά την αρχική εμφύτευση των κυττάρων, το Μάιο του 1989, αρκετά περισσότερο χρόνο από ότι είχε προβλεφθεί.

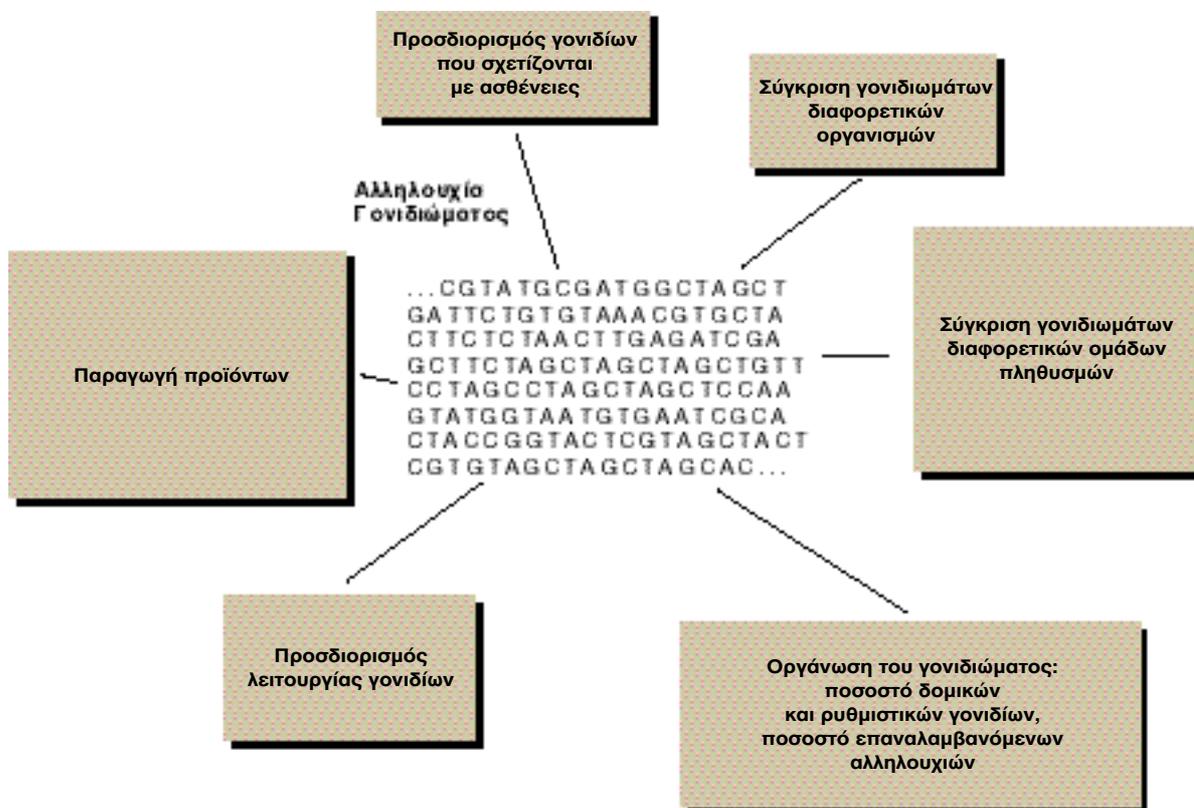
Η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος θα συμβάλει:

- Στη μελέτη της οργάνωσης και λειτουργίας του ανθρώπινου γονιδιώματος. Μετά την ολοκλήρωση του προγράμματος θα προσδιορίσουμε το σύνολο των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, τις ρυθμιστικές περιοχές των γονιδίων αυτών καθώς και τις περιοχές του γονιδιώματος με άγνωστη λειτουργία. Ο αριθμός των γονιδίων είχε αρχικά εκτιμηθεί το 1990 σε 100.000, ενώ σήμερα εκτιμάται σε 60.000 - 85.000 και πιθανόν όταν ολοκληρωθεί το πρόγραμμα της χαρτογράφησης, να είναι ακόμα μικρότερος.
- Στην ανάπτυξη μεθοδολογίας για τη διάγνωση και τη θεραπεία των ασθενειών με τον προσδιορισμό της θέσης και της αλληλουχίας των γονιδίων που έχουν μεταλλαγεί και σχετίζονται με διάφορες ασθένειες.
- Στη μελέτη της εξέλιξης του ανθρώπινου γονιδιώματος. Για το σκοπό αυτό βρίσκονται παράλληλα σε εξέλιξη προγράμματα προσδιορισμού της αλληλουχίας άλλων ειδών, τα οποία θα συμβάλουν στην αποκάλυψη των εξελικτικών σχέσεων που υπάρχουν μεταξύ των ειδών. Έτσι βρίσκονται σε εξέλιξη προγράμματα χαρτογράφησης γονιδιωμάτων οργανισμών όπως στο πρόβατο, στο σκύλο, στην αγελάδα, σε έντομα, στο γεωσκώληκα, κα-

θώς και σε πολλούς μικροοργανισμούς.

- Στην μαζική παραγωγή προϊόντων, με τις μεθόδους που χρησιμοποιεί η βιοτεχνολογία, μετά την απομόνωση των γονιδίων, τα οποία είναι χρήσιμα στη φαρμακοβιομηχανία, στη βιομηχανία, στη γεωργία και την κτηνοτροφία. Στην Εικόνα 8.6 παρουσιάζονται οι εφαρμογές που θα προκύψουν από την ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος.

Εικόνα 8.6. Εφαρμογές του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος.



### Με την αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας του DNA θα γνωρίσουμε τον εαυτό μας;

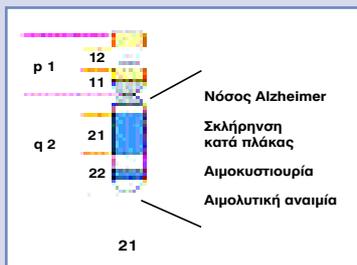
Πολλοί ερευνητές βρήκαν την προώθηση του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος εξίσου ενδιαφέρουσα με την αποστολή του ανθρώπου στο φεγγάρι το 1960. Συνοψίζοντας το πρόγραμμα το 1989 ένας από τους συμμετέχοντες έγραφε δεν είναι τίποτα περισσότερο από μία επιστημονική απάντηση στο ρητό του Σωκράτη «γνώθι σαυτόν».

Οι προσπάθειες χαρτογράφησης ξεκίνησαν στις αρχές του 20ού αιώνα. Το 1913 συγκεκριμένα έκανε την εμφάνισή του ο πρώτος γενετικός χάρτης, που προσδιόριζε τη θέση των γονιδίων στο χρωμόσωμα X της μύγας των φρούτων (*Drosophila melanogaster*). Έως το 1950 οι γενετικοί χάρτες περιορίζονταν στην απεικόνιση της θέσης των γονιδίων μόνο στο X χρωμόσωμα διάφορων οργανισμών. Το 1968 εντοπίστηκε για πρώτη φορά η θέση γονιδίου, σε αυτοσωμικό χρωμόσωμα. Το 1971 είχαν χαρτογραφηθεί στον άνθρωπο μόνο δεκαπέντε γονίδια, τα περισσότερα από τα οποία βρίσκονταν στο χρωμόσωμα X. Χάρη στο πρόγραμμα ανάλυσης του ανθρώπινου γονιδιώματος έως τα τέλη του 1998 είχαν χαρτογραφηθεί περίπου 13.000 γονίδια. Είναι γνωστή η λειτουργία μόνο των 2.000 από αυτά.

Το πρόγραμμα αυτό χρειάζεται εκτός από τεράστια χρηματοδότηση, μια ισχυρή τεχνολογική υποστήριξη, η οποία βασίζεται:

- στο συνεχώς αυξανόμενο οπλοστάσιο των τεχνικών της Μοριακής Βιολογίας,
- στην αυτοματοποίηση των εργαστηριακών μεθόδων σε σημείο που να μπορεί κανείς σήμερα να μιλάει για ρομποτική,
- στην προωθημένη ανάλυση των πειραματικών αποτελεσμάτων μέσω ηλεκτρονικών υπολογιστών και
- στον αποτελεσματικός συντονισμός των διάφορων χαρτογραφικών εργαστηρίων ανά τον κόσμο.

Εδώ πρέπει να σταθεί κανείς στην ανεκτίμητη προσφορά της Βιοπληροφορικής και της ανάλυσης μέσω υπολογιστών. Ο όγκος των δεδομένων που παράγονται, δηλαδή τεράστιος αριθμός αλληλουχιών βάσεων DNA, θα ήταν αδύνατο να αναλυθεί και να συσχετιστεί χωρίς την ύπαρξη εξελιγμένων υπολογιστικών προγραμμάτων, καθώς και την αποθήκευσή τους σε βάσεις δεδομένων.



Χαρτογράφηση γονιδίων που σχετίζονται με γενετικές ασθένειες στο χρωμόσωμα 21 και το χρωμόσωμα X.



### Περίληψη

Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA βρίσκει ευρύτατη εφαρμογή στη μαζική παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών, σημαντικότερες από τις οποίες είναι η ινσουλίνη, οι ιντερφερόνες, η αυξητική ορμόνη κ.ά. Η ανάπτυξη των ευαίσθητων τεχνικών παραγωγής και τροποποίησης των μονοκλωνικών αντισωμάτων δίνει τη δυνατότητα διάγνωσης ασθενειών πριν ακόμη εμφανιστούν τα συμπτώματά τους αλλά και τρόπους ανίχνευσης και θεραπείας διάφορων μορφών καρκίνου. Η βελτίωση της παραγωγής αντιβιοτικών και η παραγωγή νέων με μοναδικές ιδιότητες θα βοηθήσουν επίσης στη θεραπεία πολλών ασθενειών που οφείλονται σε παθογόνους παράγοντες. Η ανάπτυξη νέων, πιο εξειδικευμένων, και χωρίς παρενέργειες εμβολίων υπόσχεται καλύτερη πρόληψη πολλών ασθενειών, για τις οποίες ήδη υπάρχουν εμβόλια. Η δημιουργία νέων εμβολίων εναντίον ασθενειών για τις οποίες δεν υπάρχουν εμβόλια, όπως το AIDS και ο καρκίνος αρχίζει να γίνεται εφικτή. Τέλος, η γονιδιακή θεραπεία βοηθά στη θεραπεία γενετικών ασθενειών με εισαγωγή φυσιολογικού γονιδίου, στα σωματικά κύτταρα του οργανισμού που πάσχει από την ασθένεια. Το πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος είναι ένα τεράστιο ερευνητικό πρόγραμμα, που ξεκίνησε το 1986 αποσκοπεί στην αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας του DNA και τον εντοπισμό της θέσης των γονιδίων πάνω στα χρωμοσώματα. Η ολοκλήρωση αυτού του προγράμματος θα συμβάλει στην κατανόηση του τρόπου λειτουργίας του DNA και θα έχει πολυάριθμες εφαρμογές στην Ιατρική και στη Βιοτεχνολογία.

## Ερωτήσεις

1. Ποια συστατικά χρειάζονται για να παραχθεί ανασυνδυασμένη ανθρώπινη ινσουλίνη από κύτταρα *E. coli*;
2. Το διάγραμμα δείχνει τα βήματα με τα οποία παράγεται η ινσουλίνη σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο
  - α. σε ποιά θέση στο κύτταρο γίνονται : η μεταγραφή , η μετάφραση;
  - β. προτείνετε ένα οργανίδιο στο οποίο γίνεται η τροποποίηση της προινσουλίνης
  - γ. στη γενετική μηχανική η ινσουλίνη παράγεται από mRNA και όχι από DNA. Γιατί ;
3. Παρότι ο ποντικός και ο αρουραίος δεν είναι κτηνοτροφικής σημασίας ζώα, καταναλώνονται υπέρποσα για τη χαρτογράφηση του γονιδιώματός τους. Γιατί πιστεύετε ότι συμβαίνει κάτι τέτοιο;
4. Το γονίδιο της κυστικής ίνωσης που εισείχθη με αδενοϊό δεν πέρασε σε όλα τα κύτταρα της ασθενούς που μολύνθηκαν από αυτόν.

Εαν ο ασθενής αποκτήσει απογόνους τότε αυτοί έχουν μικρή πιθανότητα να πάσχουν από κυστική ίνωση. Δώστε μία πιθανή εξήγηση γιατί.

5. Αναφέρατε τα πλεονεκτήματα παραγωγής ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής σε σχέση με την εξαγωγή της από πτώματα

6. Η ινσουλίνη ήταν η πρώτη πρωτεΐνη που παρήχθη με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής. Για ποιο λόγο νομίζετε ότι παρήχθη η ορμόνη αυτή;

7. Τι είναι τα εμβόλια υπομονάδες;

### Εργασίες - Δραστηριότητες

Προετοιμάστε ένα μικρό λόγο διάρκειας τριών περίπου λεπτών που θα μπορούσε να παρουσιαστεί σε ραδιοφωνική εκπομπή με θέμα με τη γονιδιακή θεραπεία. Αναφερθείτε στα επιμέρους προβλήματα και προοπτικές που δημιουργεί η τεχνική.

## Βιο... περίπατοι στο Διαδίκτυο (Internet)

Όνομα ιστοσελίδας	Περιγραφή	Διεύθυνση στο Internet
1. Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας	Ασθένειες που απασχολούν περιοχές του πλανήτη μας, πρόληψη, ιατρική τεχνολογία και πολλά άλλα ...	<a href="http://www.who.int/">http://www.who.int/</a>
2. Human Genome Education Center	Η χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος και ότι ενδιαφέρεστε να μάθετε γι' αυτήν	<a href="http://www.shgc.stanford.edu/bio-ed/">http://www.shgc.stanford.edu/bio-ed/</a>
3. Hellenic Pasteur Institute	Οι ερευνητικές δραστηριότητες του Ινστιτούτου Pasteur στην Ελλάδα	<a href="http://www.pasteur.gr/">http://www.pasteur.gr/</a>
4. The Institute for Human Gene Therapy	Η σελίδα του Ινστιτούτου Γονιδιακής Θεραπείας στο Πανεπιστήμιο της Πενσυλβανία	<a href="http://www.med.upenn.edu/~ihgt/">http://www.med.upenn.edu/~ihgt/</a>
5.		
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		

(Προσθέστε επιπλέον διευθύνσεις σχετικές με το θέμα από τις δικές σας εξερευνήσεις του κυβερνοχώρου)

# Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη γεωργία και την κτηνοτροφία



Διαγωνιδιακές αγελάδες.

κεφάλαιο

9



# 9. Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη γεωργία και την κτηνοτροφία

**Οι ελεγχόμενες διασταυρώσεις οδηγούν στην τροποποίηση της γενεϊκής σύστασης των οργανισμών**

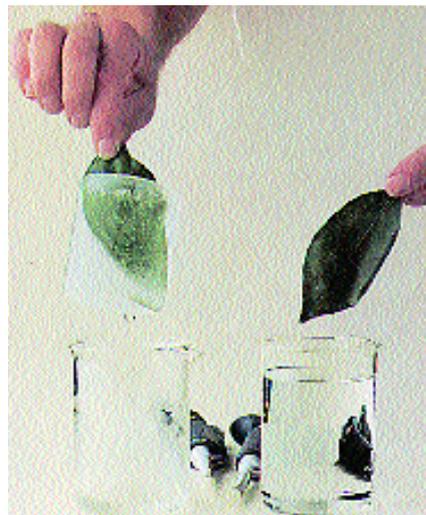
Ο πληθυσμός του πλανήτη μας αυξάνεται με ταχείς ρυθμούς. Σήμερα ο πληθυσμός είναι περίπου 6 δισεκατομμύρια, και υπολογίζεται ότι το 2050 θα ανέρχεται σε 8.5 δισεκατομμύρια. Για να καλυφθούν επαρκώς οι αυξημένες ανάγκες σε τροφή, είναι απαραίτητη η αύξηση της φυτικής και της ζωικής παραγωγής.

Ένας τρόπος βελτίωσης της φυτικής και ζωικής παραγωγής είναι οι ελεγχόμενες από τον άνθρωπο διασταυρώσεις φυτών και ζώων. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιείται **επιλογή** φυτών και ζώων που έχουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, όπως φυτά με μεγάλο μέγεθος καρπών, με ανθεκτικότητα σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες (Εικόνα 9.1) ή ζώα που παράγουν μεγάλη ποσότητα κρέατος. Οι οργανισμοί αυτοί **διασταυρώνονται** με σκοπό τη δημιουργία απογόνων με επιθυμητά χαρακτηριστικά. Αυτός ο τρόπος βελτίωσης της παραγωγής είναι χρονοβόρος και επίπονος, επειδή απαιτούνται συνεχείς διασταυρώσεις. Επιπλέον οι απογόνοι που προκύπτουν φέρουν συνήθως ορισμένους μόνο από τους επιθυμητούς χαρακτήρες μαζί με άλλες μη επιθυμητές ιδιότητες.

**Εικόνα 9.1** Φύλλα φυτού που τροποποιήθηκε γενετικά για να είναι ανθεκτικό σε συνθήκες παγετού.

**Εικόνα 9.2** Γενετικά τροποποιημένες τομάτες με βαθύτερο κόκκινο χρώμα σε σχέση με τις φυσιολογικές.

Φυσιολογικές τομάτες χωρίς χρώμα



Φυσιολογικές καλλιεργήσιμες τομάτες

Τομάτες γενετικά τροποποιημένες για βαθύτερο κόκκινο χρώμα από τις φυσιολογικές

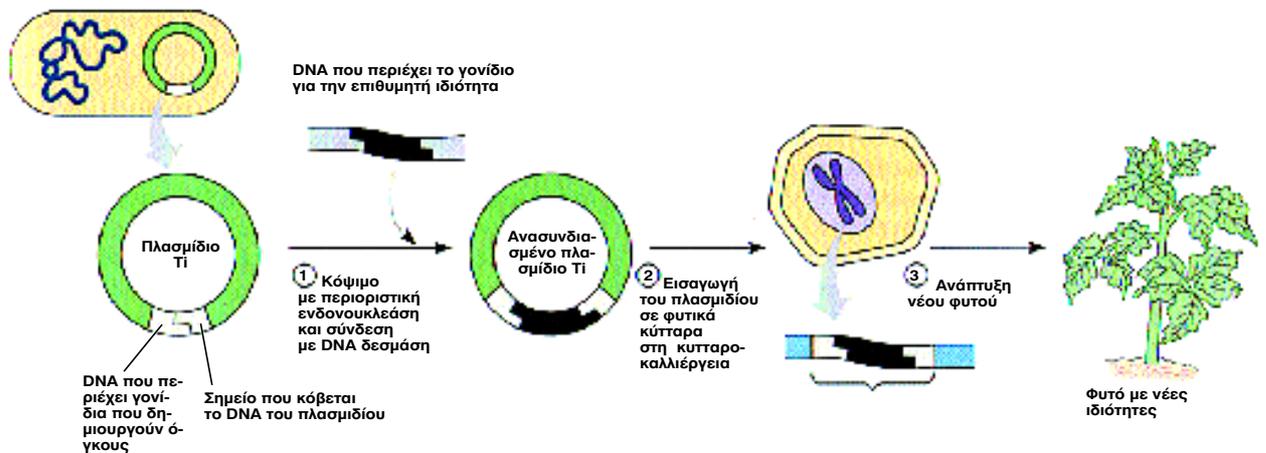


## Η δημιουργία διαγονιδιακών οργανισμών ανοίγει νέους δρόμους στην αύξηση της φυτικής και ζωικής παραγωγής

Η Γενετική Μηχανική δίνει τη δυνατότητα προσθήκης νέων γονιδίων απευθείας στον οργανισμό. Καθιστά συνεπώς δυνατή σε σύντομο χρονικό διάστημα τη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων φυτών και ζώων, που έχουν τους επιθυμητούς χαρακτήρες όπως, για παράδειγμα, ανθεκτικότητα σε ασθένειες. Τα φυτά και τα ζώα που έχουν υποστεί γενετική αλλαγή με τη χρήση των τεχνικών Γενετικής Μηχανικής ονομάζονται **διαγονιδιακά ή γενετικά τροποποιημένα** (Εικόνα 9.2). Όπως ήταν αναμενόμενο, η παραγωγή και χρήση τους δημιουργεί διάφορους προβληματισμούς, που αφορούν τις επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου, καθώς και στο περιβάλλον. Τα ζητήματα αυτά θα συζητηθούν αναλυτικά στο τελευταίο κεφάλαιο του βιβλίου, που αναφέρεται σε θέματα Βιοηθικής.

**Το *Agrobacterium* μπορεί να μεταφέρει γονίδια στα φυτά**

Το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*, το οποίο ζει στο έδαφος, διαθέτει τη φυσική ικανότητα να μολύνει φυτικά κύτταρα μεταφέροντας σ' αυτά ένα πλασμίδιο που ονομάζεται Τί (Τί = tumor inducing factor). Το πλασμίδιο Τί ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό των φυτικών κυττάρων, και δημιουργεί εξογκώματα (όγκους) στο σώμα των φυτών. Οι ερευνητές, αφού απομόνωσαν το πλασμίδιο από το βακτήριο κατόρθωσαν να απενεργοποιήσουν τα γονίδια που δημιουργούν τους όγκους τοποθετώντας στο πλασμίδιο το γονίδιο που θα προσδώσει στο φυτό μία επιθυμητή ιδιότητα (Εικόνα 9.3). Το ανασυνδυσασμένο πλασμίδιο εισάγεται σε



Εικόνα 9.3 Τρόπος χρήσης του πλασμιδίου T1, που απομονώνεται από το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*, ως φορέα για την εισαγωγή γονιδίων στα φυτά.



Εικόνα 9.4 Ψεκασμός αγρού με βακτήρια *Bacillus thuringiensis* για την καταπολέμηση εντόμων.

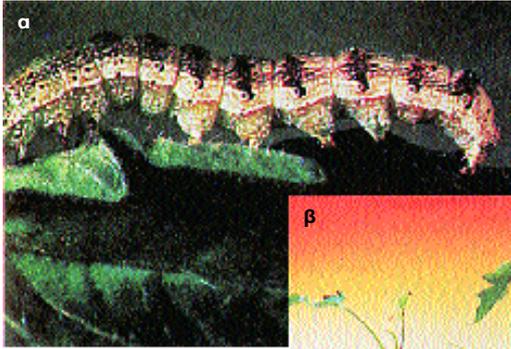
φυτικά κύτταρα που αναπτύσσονται σε ειδικές καλλιέργειες στο εργαστήριο. Τα τροποποιημένα αυτά φυτικά κύτταρα τελικά δίνουν ένα νέο φυτικό οργανισμό, που περιέχει και εκφράζει το ξένο γονίδιο. Τα **διαγονιδιακά φυτά** που δημιουργούνται έχουν την ικανότητα να μεταβιβάζουν τις νέες ιδιότητες στους απογόνους τους.

Το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens* χρησιμοποιήθηκε αρχικά, για να τροποποιηθούν γενετικά φυτά που ανήκουν στα δικοτυλήδονα, όπως ο καπνός και τα εσπεριδοειδή. Σήμερα, και με τη βοήθεια νέων τεχνικών, χρησιμοποιείται και για την τροποποίηση μονοκοτυλήδων φυτών όπως τα δημητριακά και το ρύζι. Η ίδια τεχνική χρησιμοποιείται επίσης και στις τομάτες, στις πατάτες, καθώς και σε πολλά δένδρα.

## Η Βιοτεχνολογία βοηθάει στον τομέα της καταπολέμησης παρασίτων και εντόμων

Τα έντομα μπορεί να δημιουργήσουν μεγάλα προβλήματα στη γεωργία και να οδηγήσουν σε σημαντική μείωση της παραγωγής. Μετά το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο χρησιμοποιήθηκαν πολλά εντομοκτόνα. Με την πάροδο των χρόνων όμως έγινε κατανοητό ότι ήταν επικίνδυνα για τη υγεία του ανθρώπου και προκαλούσαν μεγάλη οικολογική καταστροφή. Ήταν λοιπόν αναγκαίο να βρεθούν εναλλακτικοί τρόποι αντιμετώπισης του προβλήματος.

Το βακτήριο *Bacillus thuringiensis*, που ζει στο έδαφος, παράγει μια ισχυρή τοξίνη, η οποία μπορεί να καταστρέψει πολλά είδη εντόμων και σκωληκών και είναι 80.000 φορές



Εικόνα 9.5 Φυσιολογικό (αριστερά) και γενετικά τροποποιημένο φυτό (δεξιά) το οποίο παράγει τοξίνη που σκοτώνει κάμπιες εντόμων. Όταν τα δύο αυτά φυτά εκτέθηκαν σε κάμπιες (α) το φυσιολογικό φαγώθηκε ενώ τα γενετικά τροποποιημένο δεν δείχνει σημάδια καταστροφής (β).



πιο ισχυρή από πολλά εντομοκτόνα. Τα βακτήρια αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την καταπολέμηση των εντόμων. Αρχικά πολλαπλασιάζονται στο εργαστήριο και στη συνέχεια ψεκάζονται στον αγρό (Εικόνα 9.4). Ομως η τεχνική αυτή είναι αρκετά δαπανηρή, επειδή τα βακτήρια δεν επιβιώνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα και κατά συνέπεια χρειάζονται συνεχείς ψεκασμοί. Για το λόγο αυτό έγιναν προσπάθειες απομόνωσης του γονιδίου του βακτηρίου που παράγει την τοξίνη, και μεταφοράς του στα φυτά. Η μεταφορά στα φυτά έγινε με τη βοήθεια του πλασμιδίου *Ti* του *Agrobacterium tumefaciens*. Τα τροποποιημένα γενετικά φυτά θα είναι έτσι ανθεκτικά στα διάφορα έντομα (Εικόνα 9.5).

Το πρώτο φυτό στο οποίο ενσωματώθηκε το γονίδιο της ανθεκτικότητας στα έντομα του *Bacillus thuringiensis* ήταν το καλαμπόκι. Τα αποτελέσματα ήταν πολύ ικανοποιητικά και στη συνέχεια η ίδια τεχνική εφαρμόστηκε και στο βαμβάκι, στην πατάτα, στη τομάτα και σε πολλά άλλα είδη φυτών. Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά αυτού του τύπου αποτελούν τις ποικιλίες Bt.

Παρόμοιες προσπάθειες έχουν γίνει, πάντα με τη χρησιμοποίηση τεχνικών Γενετικής Μηχανικής, για την προστασία των φυτών έναντι βακτηρίων, μυκήτων και ιών.

### Η τροποποίηση του γενετικού υλικού των ζώων είναι δυνατή με διάφορες τεχνικές

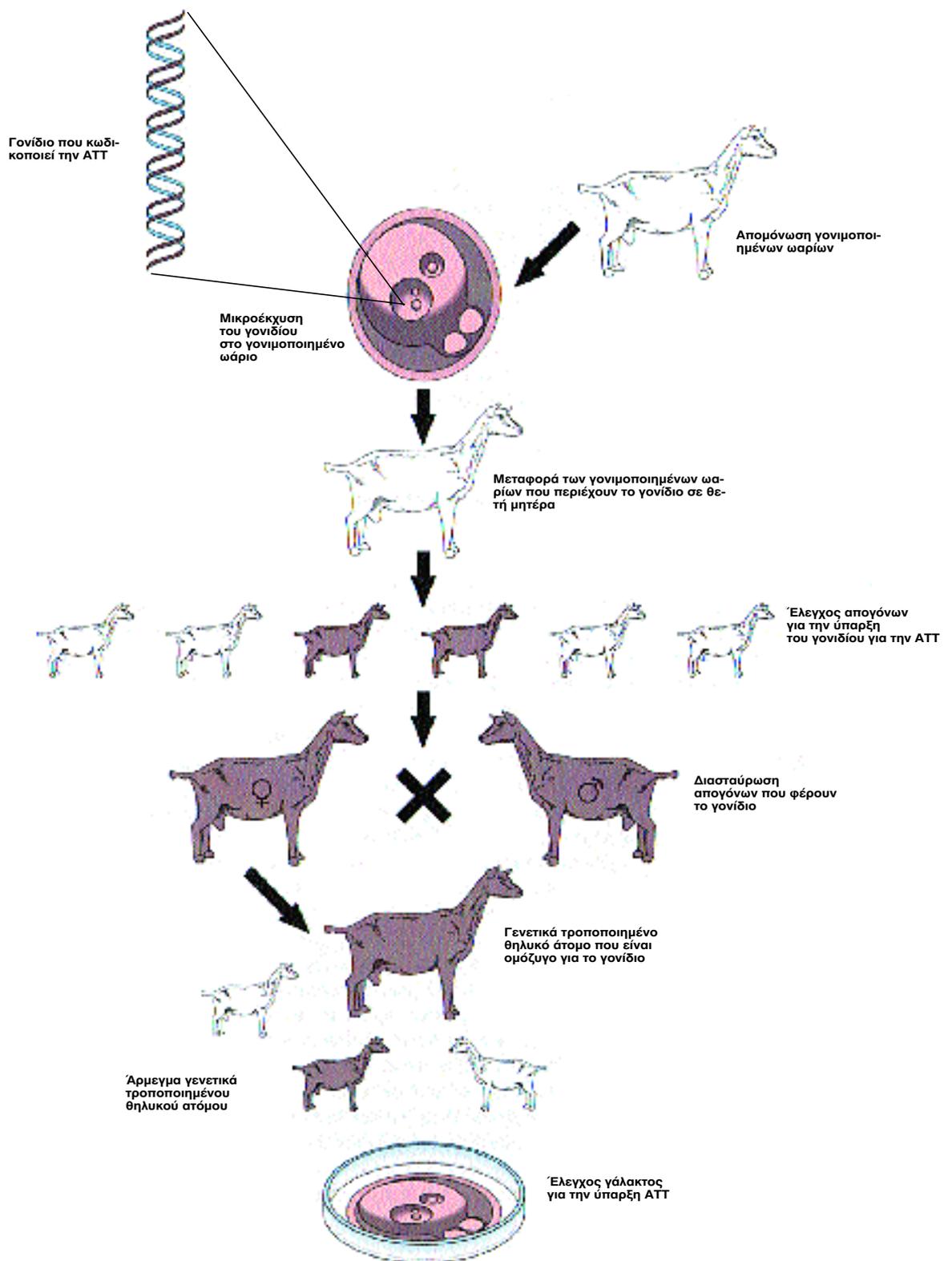
**Διαγονιδιακά** ονομάζονται τα ζώα εκείνα στα οποία έχει τροποποιηθεί το γενετικό υλικό τους με την προσθήκη γονιδίων, συνήθως από κάποιο άλλο είδος. Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την είσοδο του «ξένου» DNA στα κύτταρα ενός ζώου. Οι σημαντικότερη από αυτές είναι η **μικροέγχυση** (Εικόνα 9.6). Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται ωάρια του ζώου που έχουν γονιμοποιηθεί στο εργαστήριο. Σε αυτά γίνεται εισαγωγή του ξένου DNA με ειδική μικροβελόνα. Το ξένο γενετικό υλικό ενσωματώνεται συνήθως σε κάποιο από τα χρωμοσώματα του πυρήνα του ζυγωτού. Το ζυγωτό τοποθετείται στη συνέχεια στη μήτρα της «θετής» μητέρας, ενός ζώου στο οποίο θα αναπτυχθεί το έμβρυο. Η μικροέγχυση αποτελεί τη μοναδική μέθοδο δημιουργίας διαγονιδιακών αγελάδων, προβάτων, χοίρων και αιγών.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.1: Φυτικοί και ζωικοί οργανισμοί που έχουν τροποποιηθεί γενετικά για κάποιες ιδιότητες.

Οργανισμός	Ιδιότητα	
Μηλιά	α	α. τοξίνη που σκοτώνει τα έντομα
Λάχανο	β	β. αντοχή στα ζιζανιοκτόνα
Βαμβάκι	α, β	γ. αντοχή σε αντιβιοτικά
Αγγούρι	δ	δ. αντοχή σε ιούς
Κουνουπίδι	δ	ε. διαφοροποίηση
Καλαμπόκι	α, β, δ, ε, στ	στ. αντίσταση στους μύκητες
Ελαιοκράμβη	α, β, γ, ζ	ζ. παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών
Πατάτα	β, δ, ε, ζ, η	η. αντοχή σε βακτήρια
Ρύζι	α, γ, ε	θ. αντοχή στον παγετό
Σόγια	β, ε	ι. καθυστέρηση ωρίμανσης
Φράουλα	β, θ	ια. ταχύτερη ανάπτυξη
Σακχαρότευτλο	β, δ, ε	ιβ. γονίδια για ασθένειες
Καπνός	α, β, γ, δ, ε, στ, θ	ιγ. αντοχή στις χαμηλές θερμοκρασίες
Τομάτα	α, β, δ, ε, στ, θ, ι	
Αγελάδα	ζ, ια	
Αίγα	ζ	
Γουρούνι	ζ, ια, ιβ	
Σολωμός	ια, ιγ	
Πρόβατο	ζ	
Πέστροφα	ια	

Εικόνα 9.6. Μικροέγχυση DNA





Εικόνα 9.7. Στάδια παραγωγής φαρμακευτικών πρωτεϊνών στο γάλα διαγονιδιακών ζώων.

## Στο γάλα των διαγονιδιακών ζώων μπορούν να εκκρίνονται φαρμακευτικές πρωτεΐνες

Τα διαγονιδιακά ζώα χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων πρωτεϊνών σε μεγάλη ποσότητα. Όπως έχει ήδη αναφερθεί είναι δυνατή η παραγωγή πρωτεϊνών, όπως η ινσουλίνη και η ανθρώπινη αυξητική ορμόνη, από βακτήρια. Στις περισσότερες όμως περιπτώσεις οι πρωτεΐνες αυτές δεν είναι ακριβώς ίδιες με τις πρωτεΐνες του ανθρώπου, επειδή τα βακτήρια δε διαθέτουν τους μηχανισμούς τροποποίησης των πρωτεϊνών που διαθέτουν οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί. Μια πολλά υποσχόμενη ιδέα είναι η παραγωγή πρωτεϊνών από κύτταρα των μαστικών αδένων των ζώων, για παράδειγμα των προβάτων και των αγελάδων. Με αυτό τον τρόπο θα είναι δυνατή η συλλογή της πρωτεΐνης από το γάλα των ζώων. Αυτός ο τρόπος παραγωγής ονομάζεται **παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα** (gene pharming).

Η πιο επιτυχημένη εφαρμογή αφορά την παραγωγή της ανθρώπινης α<sub>1</sub>-αντιθρυψίνης (ΑΤΤ=αlpha anti-trypsin) από πρόβατα. Η πρωτεΐνη αυτή παράγεται στο ήπαρ του ανθρώπου και η απουσία της, που είναι αποτέλεσμα μετάλλαξης του γονιδίου, έχει ως αποτέλεσμα γενετική αθένεια, που οδηγεί στο εμφύσημα. Για την παραγωγή της πρωτεΐνης αυτής από τα πρόβατα απομονώθηκε το φυσιολογικό γονίδιο της ΑΤΤ του ανθρώπου και στη συνέχεια με μικροέγχυση τοποθετήθηκε σε γονιμοποιημένο ωάριο προβάτου. Το πρόβατο που γενήθηκε από το γονιμοποιημένο αυτό ωάριο ήταν η Tracy, της οποίας οι απόγονοι συνέχισαν να έχουν το ξένο γονίδιο και να παράγουν την ΑΤΤ. Οι δυνατότητες παραγωγής τέτοιων ουσιών από διαγονιδιακά ζώα είναι πολύ μεγάλες (Εικόνα 9.7).

Εκτός από την ΑΤΤ άλλες χρήσιμες πρωτεΐνες που παράγονται με αυτό τον τρόπο είναι ο παράγοντας ΙΧ, μία πρωτεΐνη που συμμετέχει στο μηχανισμό πήξης του αίματος και χορηγείται σε άτομα που πάσχουν από αιμορροφιλία Β, ο ενεργοποιητής πλασμινογόνου (tPA), που χρησιμοποιείται για τη διάλυση θρόμβων σε ασθενείς που πάσχουν από ασθένειες του κυκλοφορικού και η αυξητική ορμόνη (Πίνακας 9.2).

**ΠΙΝΑΚΑΣ 9.2:** Φαρμακευτικές πρωτεΐνες που παράγονται από διαγονιδιακά ζώα.

Πρωτεΐνη	Ασθένεια στην οποία χρησιμοποιείται
Ινσουλίνη	Σακχαρώδης διαβήτης
Παράγοντες VIII και IX	Αιμορροφιλία Α και Β
Ενεργοποιητής πλασμινογόνου (tPA)	Θρόμβωση αγγείων, Έμφραγμα
Ιντερφερόνες	Καρκίνος
Διαμεμβρανικός ρυθμιστής	Κυστική ίνωση
α <sub>1</sub> -Αντιθρυψίνη (ΑΤΤ)	Πνευμονικό εμφύσημα
Παράγοντας CD4	AIDS
Αυξητική ορμόνη	Αχονδροπλασία

Συνοψίζοντας, θα μπορούσαμε να αναφέρουμε ότι τα βήματα που απαιτούνται για την παραγωγή μιας φαρμακευτικής πρωτεΐνης ανθρώπινης προέλευσης από ένα διαγονιδιακό ζώο είναι τα παρακάτω:

- Απομόνωση του ανθρώπινου γονιδίου που κωδικοποιεί την φαρμακευτική πρωτεΐνη που μας ενδιαφέρει.
- Μικροέγχυση του γονιδίου στον πυρήνα ενός γονιμοποιημένου ωαρίου του ζώου.
- Τοποθέτηση του γενετικά τροποποιημένου ωαρίου στη μήτρα ενήλικου ζώου για κυοφορία.
- Γέννηση του διαγονιδιακού ζώου
- Διασταυρώσεις με σκοπό να περάσει η τροποποιημένη γενετική πληροφορία στους απογόνους.
- Παραγωγή, απομόνωση και καθαρισμός της φαρμακευτικής πρωτεΐνης.

Είναι φανερό ότι η χρησιμοποίηση διαγονιδιακών φυτών και ζώων για την αύξηση της φυτικής και ζωικής παραγωγής παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι της κλασικής μεθόδου των διασταυρώσεων. Αυτά επιγραμματικά είναι τα παρακάτω:

- Επιλογή και προσθήκη μόνο επιθυμητών ιδιοτήτων με ταυτόχρονη διατήρηση των παλαιών επιθυμητών χαρακτηριστικών.
- Ταχύτερη παραγωγή βελτιωμένων φυτών και ζώων σε σχέση με παραδοσιακές τεχνικές.

### Σολομός γίγας

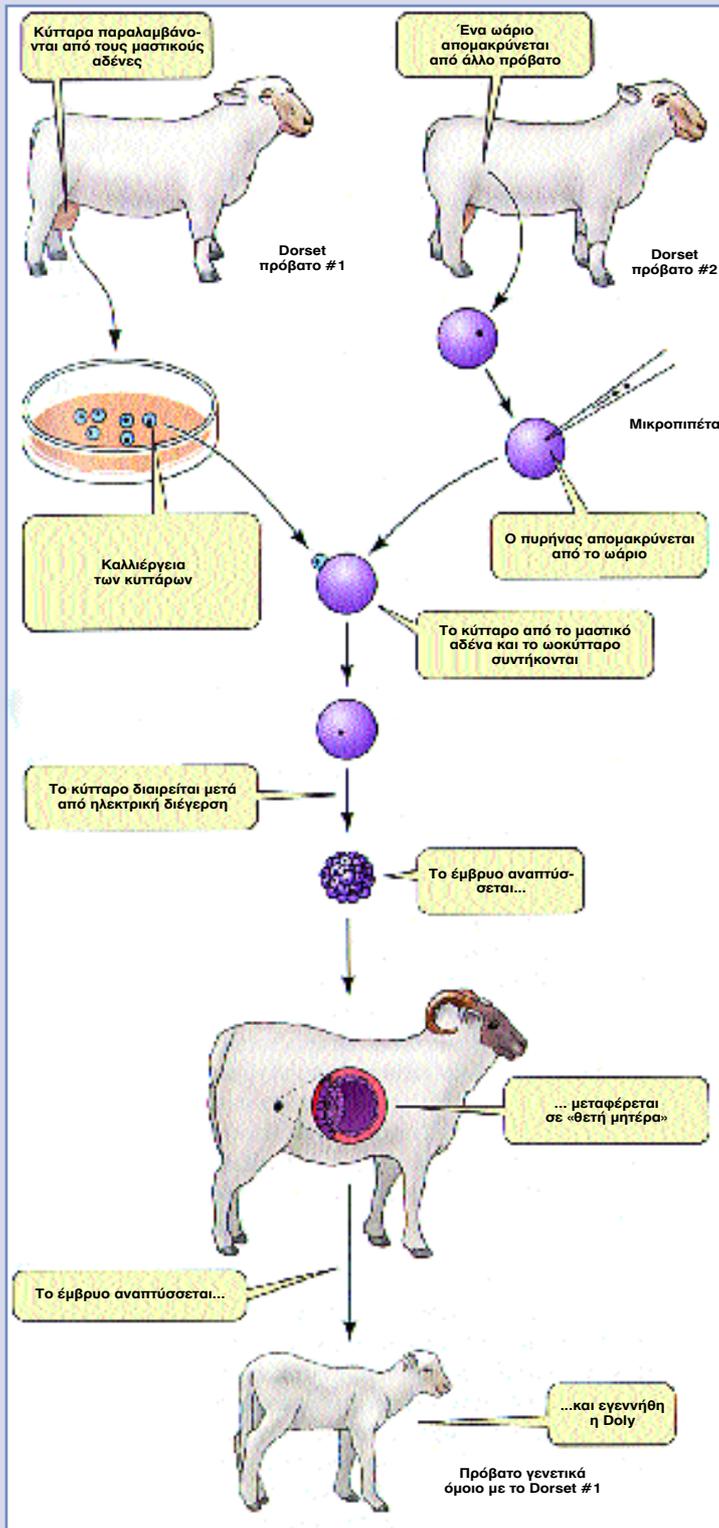
Πρόσφατα στον Καναδά ερευνητές κατόρθωσαν να εισαγάγουν στα κύτταρα σολομού ρυθμιστικό γονίδιο, από ένα είδος βακαλάου, το οποίο ενεργοποιεί το γονίδιο της αυξητικής ορμόνης του σολομού. Σε πειραματικές ιχθυοκαλλιέργειες στην Σκωτία οι σολωμοί αυτοί αναπτύσσονται δέκα φορές ταχύτερα από τους φυσιολογικούς και φτάνουν το τριακονταπλάσιο βάρος από εκείνους.

### Η Βιοτεχνολογία με αριθμούς

Έχει αναφερθεί παραγωγή 35 γραμμαρίων α<sub>1</sub>-αντιθρυψίνης του ανθρώπου από ένα λίτρο γάλατος διαγονιδιακού προβάτου. Αν συνυπολογιστεί ότι ένα πρόβατο παράγει μέχρι 800 λίτρα γάλα το χρόνο, είναι κατανοητό ότι η παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα είναι το περισσότερο υποσχόμενο επίτευγμα από τότε που γίνεται λόγος για σύγχρονη Βιοτεχνολογία.

## Και ξαφνικά όλοι μιλάνε για κλωνοποίηση.....

Το 1997, όταν οι ερευνητές του Ινστιτούτου Roselip της Σκωτίας ανακοίνωσαν ότι κλωνοποίησαν ένα πρόβατο, το νέο έκανε αμέσως το γύρο του κόσμου με πηχιαίους τίτλους. Το πρόβατο Dolly δημιουργήθηκε, όταν ο πυρήνας ενός κυττάρου του μαστικού αδένος ενός εξάχρονου πρόβατου τοποθετήθηκε στο ωάριο ενός άλλου πρόβατου. Από το ωάριο είχε προηγουμένως αφαιρεθεί ο πυρήνας.



Η δημιουργία της Dolly δεν προξένησε έκπληξη στους βιολόγους όσο στον υπόλοιπο κόσμο, επειδή είχε προηγηθεί κλωνοποίηση αμφιβίων από την αρχή της δεκαετίας του

1960. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιήθηκε και για την κλωνοποίηση θηλαστικών. Αυτά όμως τα κλωνοποιημένα ζώα είχαν δημιουργηθεί με τη χρησιμοποίηση πυρήνων από κύτταρα εμβρύου. Η κλωνοποίηση που δημιουργείται από ενήλικο κύτταρο είναι πιο ενδιαφέρουσα, επειδή πολλά από τα γονίδια του δεν λειτουργούν λόγω της διαφοροποίησης των κυττάρων. Το κύτταρο, του οποίου χρησιμοποίησαν τον πυρήνα, δηλαδή το κύτταρο του αδένος του μαστού, πιθανόν δεν ήταν πλήρως διαφοροποιημένο και έτσι ήταν ευκολότερο να επιστρατευτεί η λειτουργία όλων των γονιδίων του. Το έμβρυο το οποίο δημιουργήθηκε ύστερα από 3-4 διαιρέσεις εμφυτεύτηκε στη μήτρα θετικής μητέρας-προβατίνας, η οποία γέννησε τη Dolly.

Η κλωνοποίηση όμως είναι πολύ χρήσιμη στον πολλαπλασιασμό διαγονιδιακών ζώων. Η δημιουργία ενός διαγονιδιακού ζώου που παράγει τον ανθρώπινο παράγοντα πήξης του αίματος, για παράδειγμα, κοστίζει 300-600 εκατομμύρια δραχμές. Με κλωνοποίηση μπορούν εύκολα να παραχθούν πολλά πανομοιότυπα ζώα και έτσι ακόμη μεγαλύτερες ποσότητες του φαρμάκου.

Η κλωνοποίηση μπορεί επίσης να συνεισφέρει στην προστασία από την εξαφάνιση διάφορων ζώων του πλανήτη μας. Στις καταψύξεις πολλών ζωολογικών κήπων υπάρχουν κατεψυγμένα ωάρια και σπέρματοζωάρια ή έμβρυα ζώων που κινδυνεύουν να εξαφανιστούν. Πυρήνες από αυτά τα κύτταρα μπορούν να μεταφερθούν σε απύρρινα ωοκύτταρα του είδους που μας ενδιαφέρει και στη συνέχεια να κλωνοποιηθούν στο ίδιο ή σε συγγενικό είδος ζώου.

### Περίληψη

Η επιλογή και διασταύρωση οργανισμών με επιθυμητές ιδιότητες είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για την αύξηση της φυτικής και ζωικής παραγωγής. Η μέθοδος αυτή είναι επίπονη και πολλές φορές δε δίνει τα επιθυμητά αποτελέσματα. Με τη χρήση μεθόδων Γενετικής Μηχανικής είναι δυνατή η απευθείας μεταφορά στα φυτά και τα ζώα γενετικού υλικού που φέρει τις επιθυμητές ιδιότητες. Οι οργανισμοί που δημιουργούνται με αυτό τον τρόπο είναι γενετικά τροποποιημένοι και ονομάζονται διαγονιδιακοί ή γενετικά τροποποιημένοι. Για τη μεταφορά γενετικού υλικού σε μεγάλη κατηγορία φυτών χρησιμοποιείται, το πλασμίδιο T1 του βακτηρίου *Agrobacterium tumefaciens*. Στα ζώα χρησιμοποιείται με σημαντικά ποσοστά επιτυχίας, η τεχνική της μικροέγχυσης. Από διαγονιδιακά ζώα έχει επιτευχθεί η παραγωγή σημαντικών φαρμακευτικών πρωτεϊνών.

### Ερωτήσεις

1. Αναφέρατε από μία μέθοδο μεταφοράς γονιδίων σε φυτά και ζώα.
2. Αναφέρατε τις εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη φυτική παραγωγή.
3. Περιγράψτε τη μέθοδο με την οποία χρησιμοποιούνται βακτήρια με στόχο την εξολόθρευση βλαβερών για τις αγροτικές καλλιέργειες εντόμων.
4. Με ποιο από τους παρακάτω τρόπους θα μπορούσε να προκύψει ένα μηρυκαστικό το οποίο να παράγει τον αντιπηκτικό παράγοντα IX στο γάλα του:
  - α. Με τη μέθοδο της επιλογής και των διασταυρώσεων;
  - β. Με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής
 Εξηγείστε
5. Στα φυτά μπορούν να εισαχθούν γονίδια που τα καθιστούν ανθεκτικά στα ζιζανιοκτόνα ή τους δίνουν την δυνατότητα να παράγουν ουσίες που εξολοθρεύουν τα έντομα.

## Βιο... περίπατοι στο Διαδίκτυο (Internet)

Όνομα ιστοσελίδας	Περιγραφή	Διεύθυνση στο Internet
1. <b>European Plant Biotechnology Network</b>	Ενδιαφέροντα στοιχεία για την πορεία της Βιοτεχνολογίας Φυτών στον Ευρωπαϊκό χώρο	<a href="http://www.epbn.de/">http://www.epbn.de/</a>
2. <b>Plant Biotechnology Institute</b>	Μια επίσκεψη στην ιστοσελίδα του Καναδικού Ινστιτούτου Φυτικής Βιοτεχνολογίας θα σας αποκαλύψει τους τρόπους οργάνωσης και διεξαγωγής των ερευνών που διεξάγονται σε τέτοιου είδους ερευνητικά κέντρα.	<a href="http://www.pbi.nrc.ca/pbi.html">http://www.pbi.nrc.ca/pbi.html</a>
3. <b>Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών</b>	Στο συγκεκριμένο Α.Ε.Ι. διεξάγεται σύγχρονη Γεωργική Εκπαίδευση και Έρευνα	<a href="http://www.aua.gr/diamesG.htm">http://www.aua.gr/diamesG.htm</a>
4. <b>Τμήμα Γεωπονίας (Α.Π.Θ.)</b>	Η οργάνωση του Τμήματος Γεωπονίας του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης	<a href="http://www.auth.gr/agro/geoponia.html">http://www.auth.gr/agro/geoponia.html</a>
5. <b>Iowa State University Biotechnology</b>	Αναφέρονται μεταξύ των άλλων θέματα σχετικά με τη γενετική τροποποίηση φυτών και ζώων για τη βελτίωση της παραγωγικότητας στη γεωργία και την κτηνοτροφία	<a href="http://www.biotech.iastate.edu">http://www.biotech.iastate.edu</a>
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		

(Προσθέστε επιπλέον διευθύνσεις σχετικές με το θέμα από τις δικές σας εξερευνήσεις του κυβερνοχώρου)