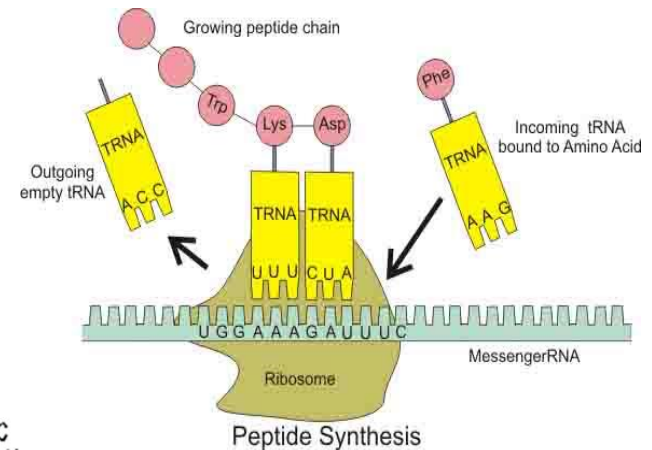
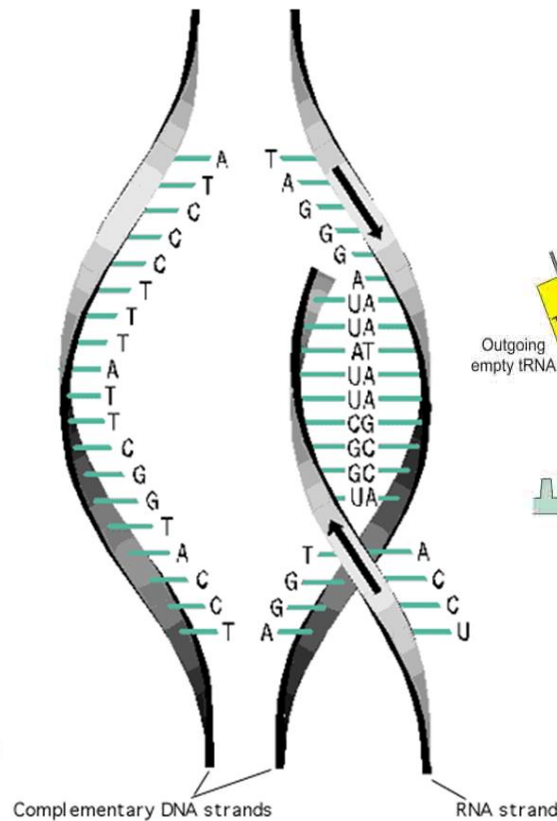
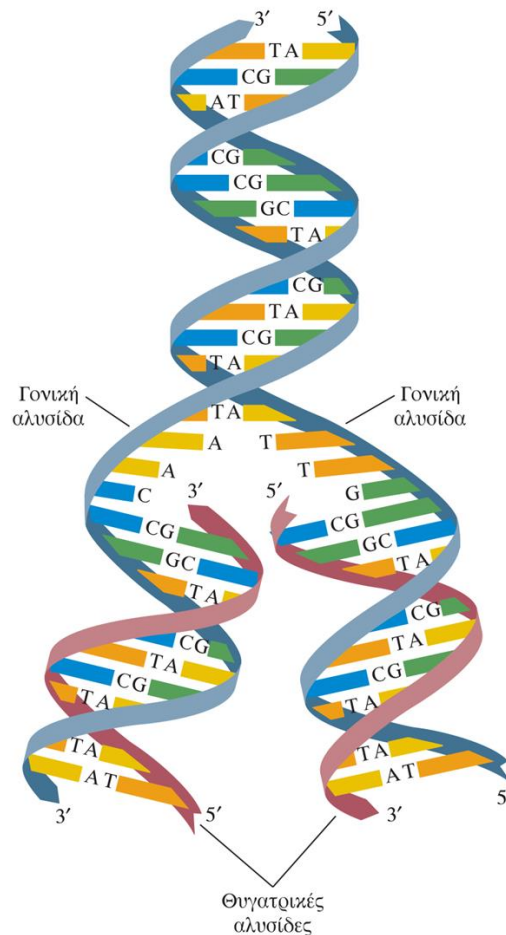


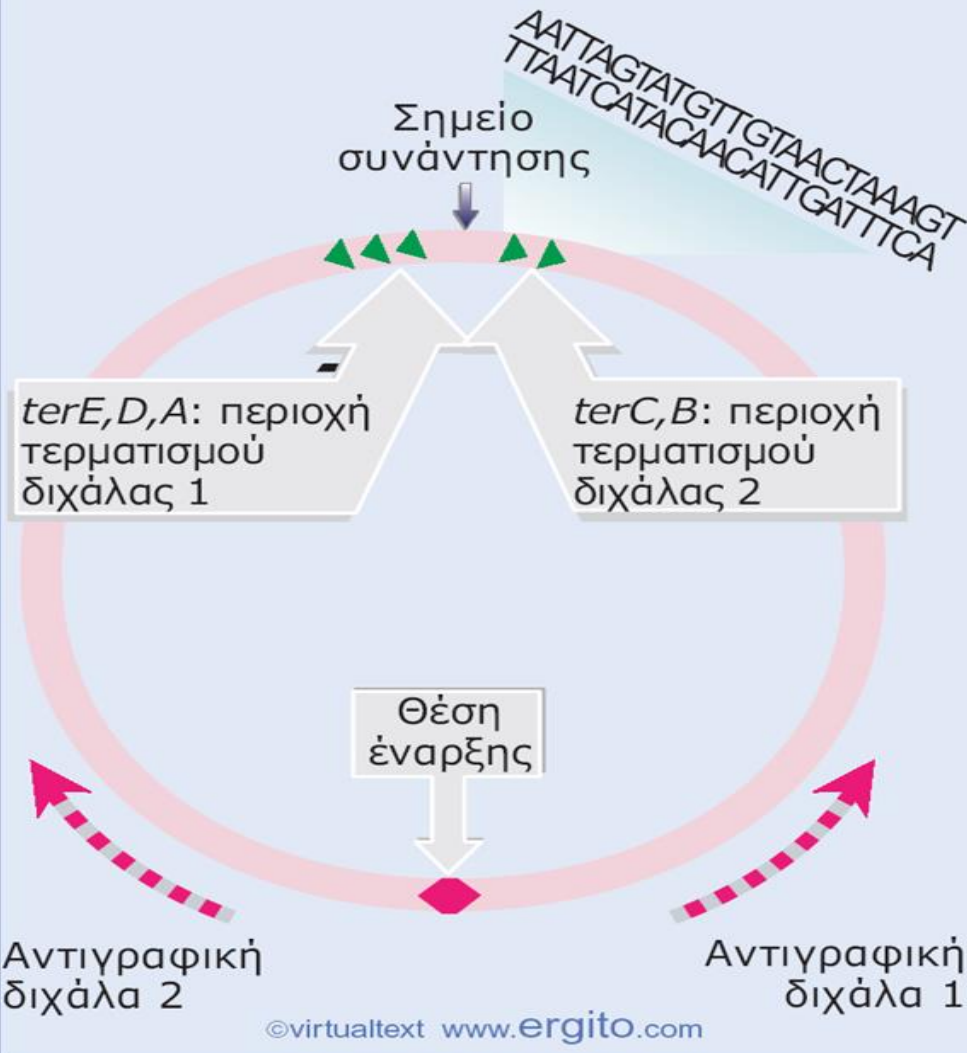
ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ – ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ - ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

- **Κεντρική ιδέα:** Η γενετική πληροφορία που είναι αποθηκευμένη στο γενετικό υλικό (DNA/RNA) αντιγράφεται με εξαιρετική ακρίβεια, στη συνέχεια η πληροφορία μεταφέρεται από το DNA στο RNA και από το RNA στις πρωτεΐνες (πολυπεπτίδια) που επιτελούν τις κυτταρικές λειτουργίες



Η αντιγραφή στους προκαρυώτες (*E. coli*)

Οι διχάλες συνήθως συναντώνται πριν από τις περιοχές τερματισμού

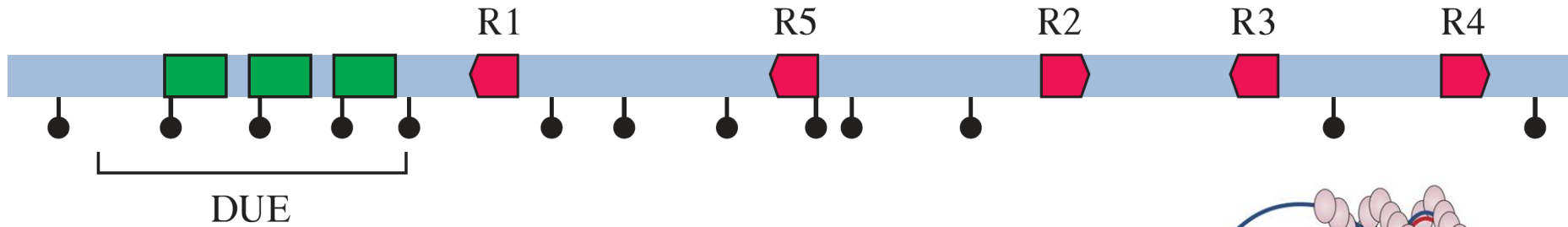


Το βακτηριακό ρεπλικόνιο θα πρέπει να υποστηρίζει τις εξής λειτουργίες:

- A. Έναρξη αντιγραφής
- B. Έλεγχός της συχνότητας της έναρξης
- Γ. Αποχωρισμός των αντιγραφόμενων χρωμοσωμάτων στα θυγατρικά κύτταρα

- Κοινό χαρακτηριστικό των θέσεων έναρξη
- είναι το μεγάλο ποσοστό σε A-T βάσεις (αποδιάταξη DNA κατά την έναρξη)
- Τα προκαρυωτικά ρεπλικόνια είναι συνήθως κυκλικά και αμφίδρομα
- Οι αλληλουχίες τερματισμού είναι μονής κατεύθυνσης

Η ελάχιστη ακολουθία του oriC

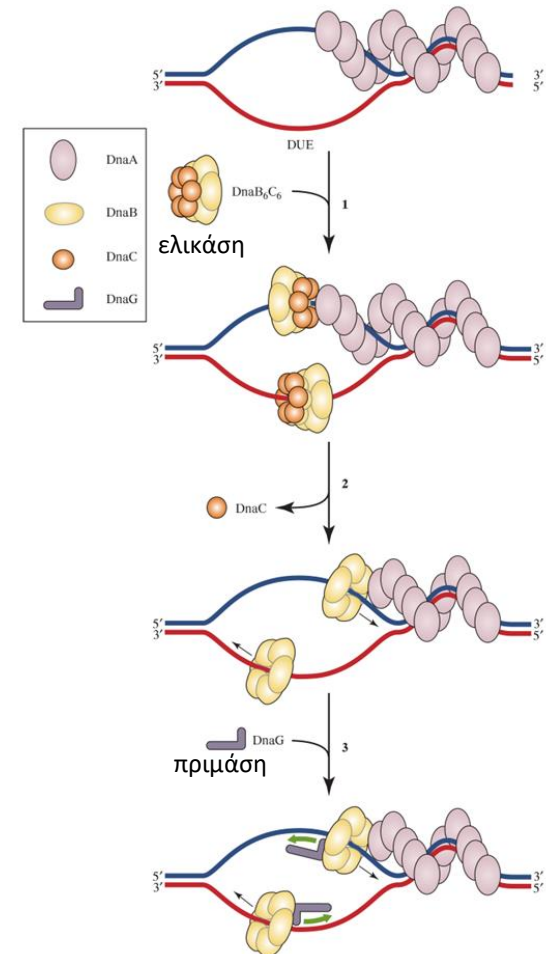


 9-μερείς θέσεις πρόσδεσης της DnaA

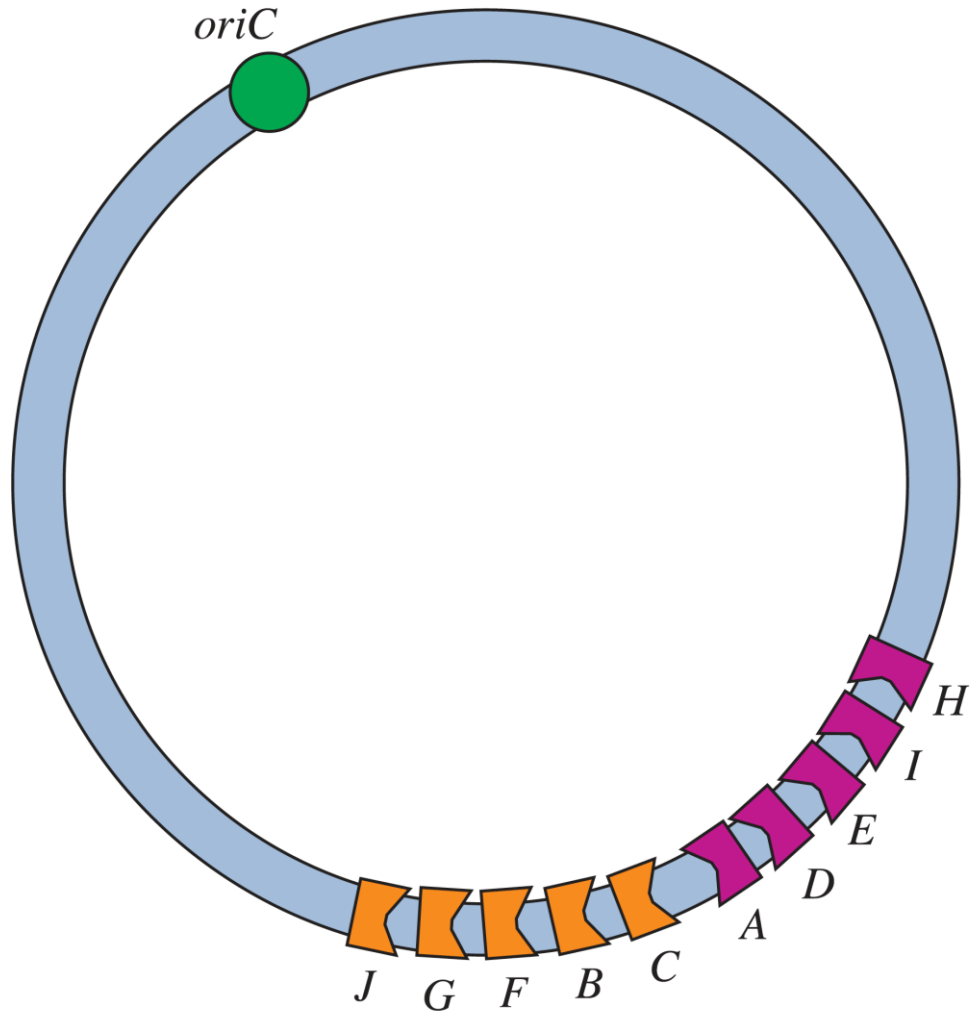
 13-μερή πλούσια σε AT

 Dam-θέσεις μεθυλίωσης (GATC)

Η δημιουργία του συμπλόκου έναρξης της αντιγραφής και η **αμφίδρομη** αντιγραφική διχάλα.



Τερματισμός της αντιγραφής στο E.coli



Η αντιγραφή ολοκληρώνεται
όταν οι δύο διχάλες
συναντηθούν στην περιοχή
τερματισμού (θέσεις Ter –
Termination sites)

Η πρωτεΐνη Tus protein και η λήξη της αντιγραφής στις θέσεις *ter*

Στο *E.coli*

Tus πρωτεΐνη (36 kDa)

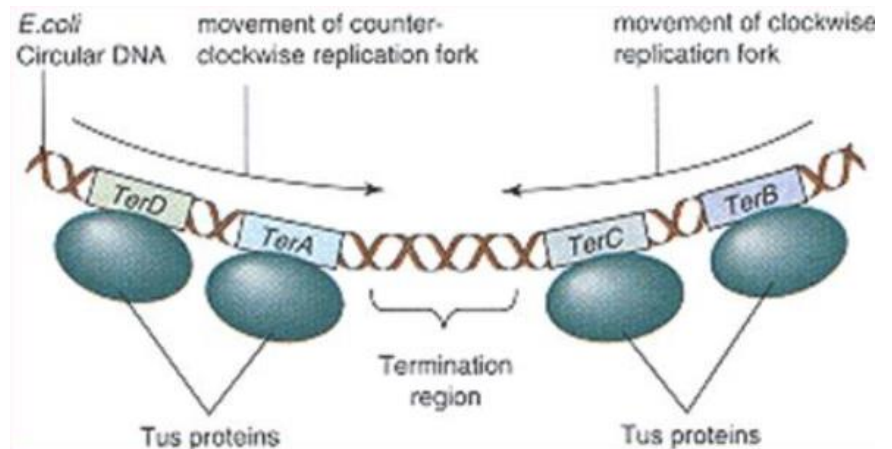
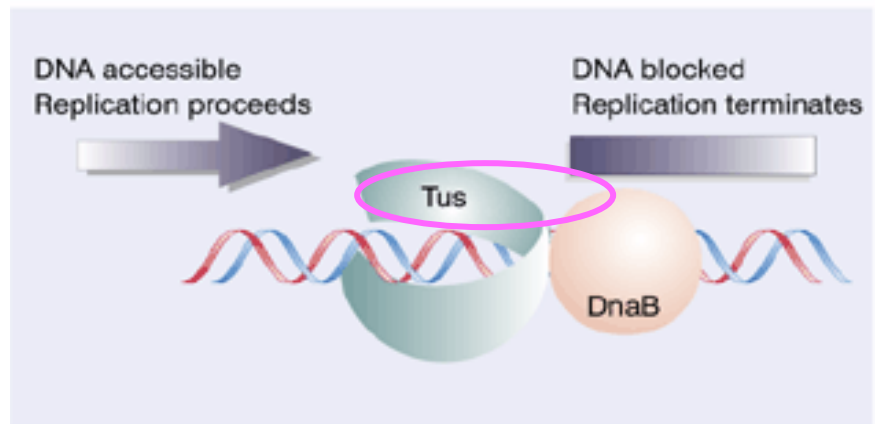


Ter θέση 23 bp
συντηρημένη ακολουθία

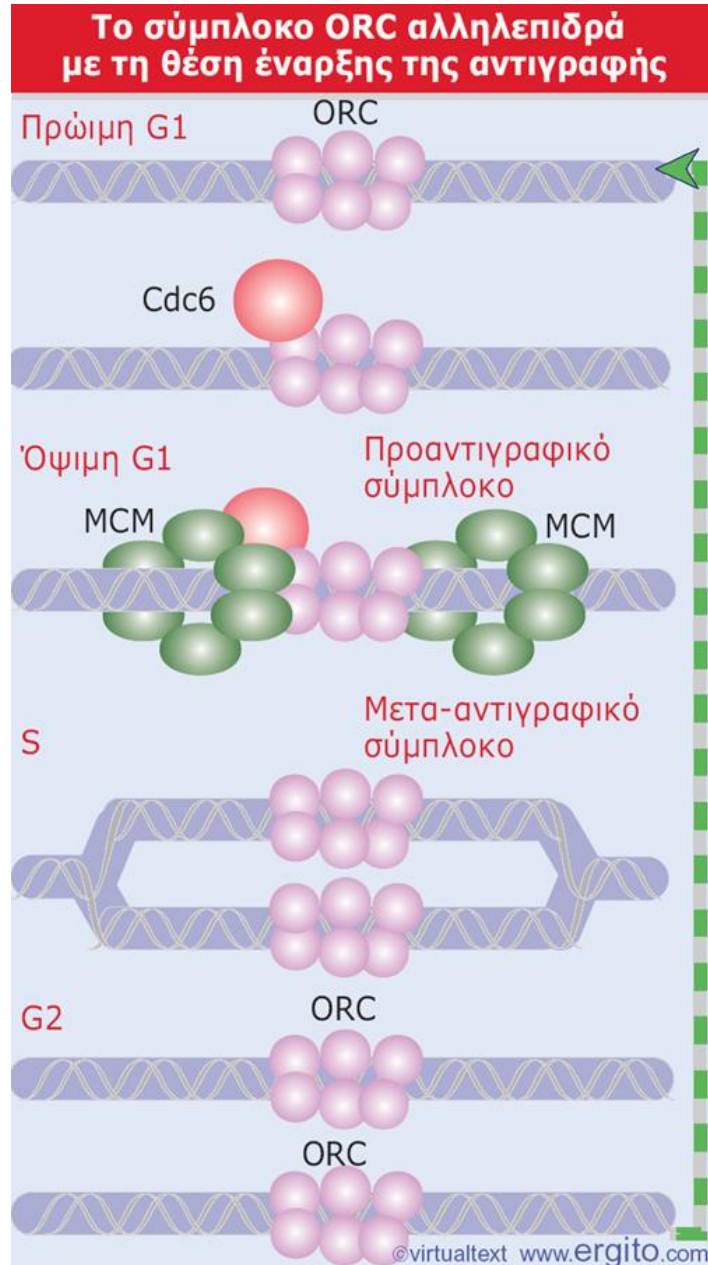


Το αντιγραφόσωμα
αποδιατάσσεται

Figure 13.17 Tus binds to *ter* asymmetrically and blocks replication in only one direction.



Ρύθμιση της έναρξης της αντιγραφής στους ευκαρυώτες



- Για την έναρξη της αντιγραφής στα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι απαραίτητη η παρουσία του παράγοντα αδειοδότησης στη θέση έναρξης
- Ο παράγοντας αυτός ανιχνεύεται στον πυρήνα πριν από την αντιγραφή αλλά απενεργοποιείται ή καταστρέφεται από τη διαδικασία
- Η έναρξη του επόμενου κύκλου αντιγραφής είναι δυνατή μόνο μετά την είσοδο που παράγοντα αδειοδότησης στον πυρήνα μετά τη μίτωση.

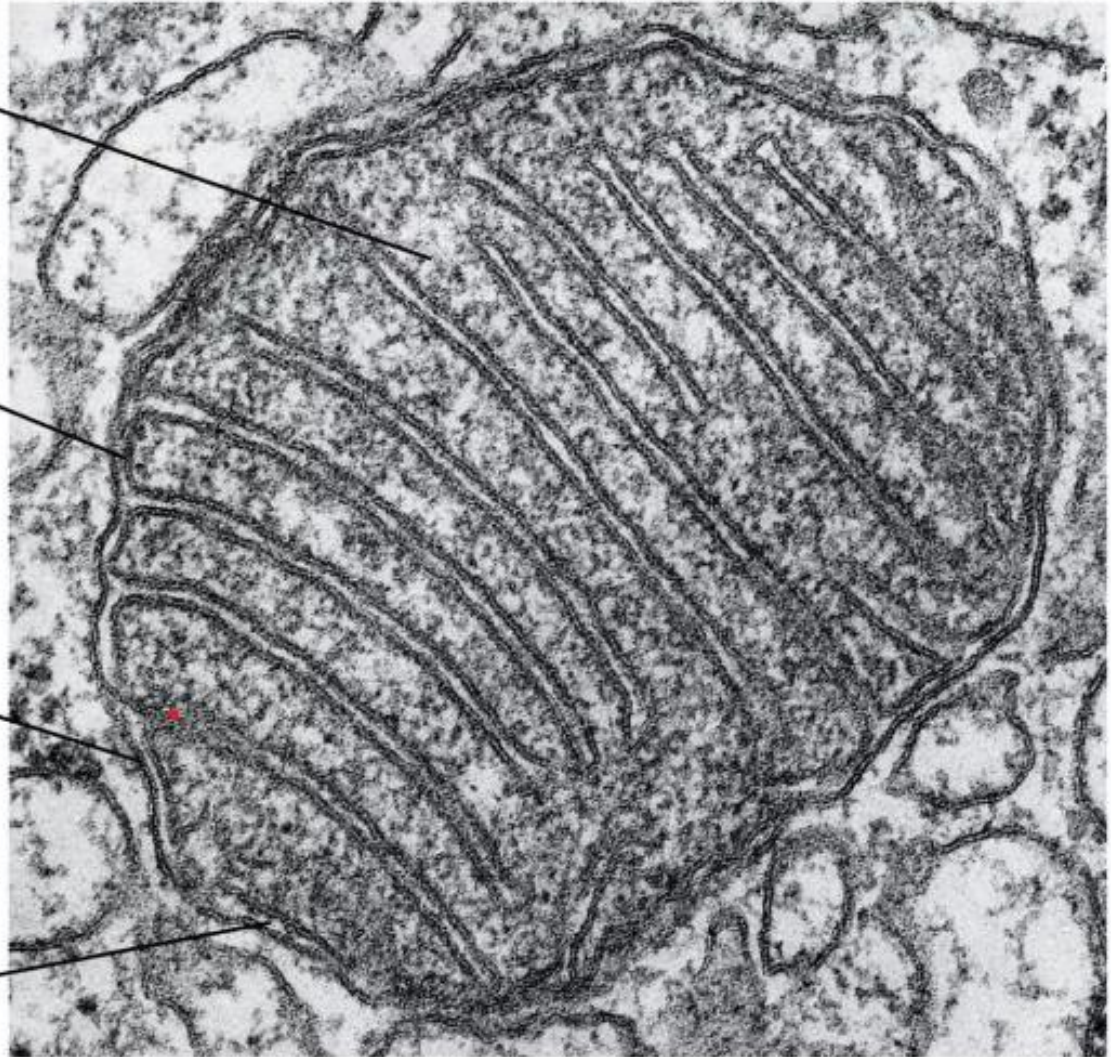
Αντιγραφή και μιτοχόνδρια

Matrix. This space contains a highly concentrated mixture of hundreds of enzymes, including those required for the oxidation of pyruvate and fatty acids and for the citric acid cycle.

Inner membrane. Folded into numerous cristae, the inner membrane contains proteins that carry out the oxidation reactions of the electron-transport chain and the ATP synthase that makes ATP in the matrix.

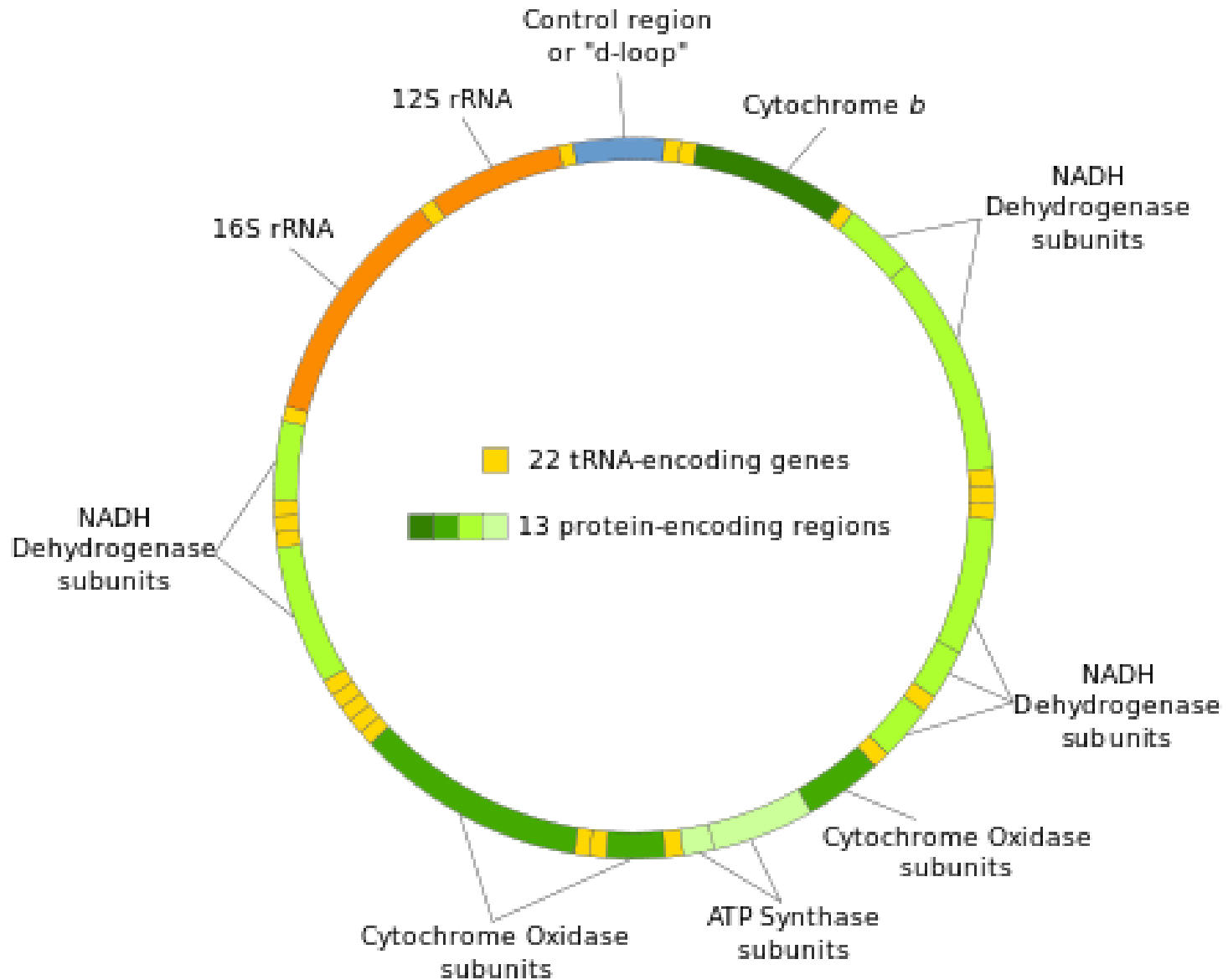
Outer membrane. Because it contains a large channel-forming protein (called porin), the outer membrane is permeable to all molecules of 5000 daltons or less.

Intermembrane space. This space contains several enzymes that use the ATP passing out of the matrix to phosphorylate other nucleotides.



100 nm

Αντιγραφή και μιτοχόνδρια

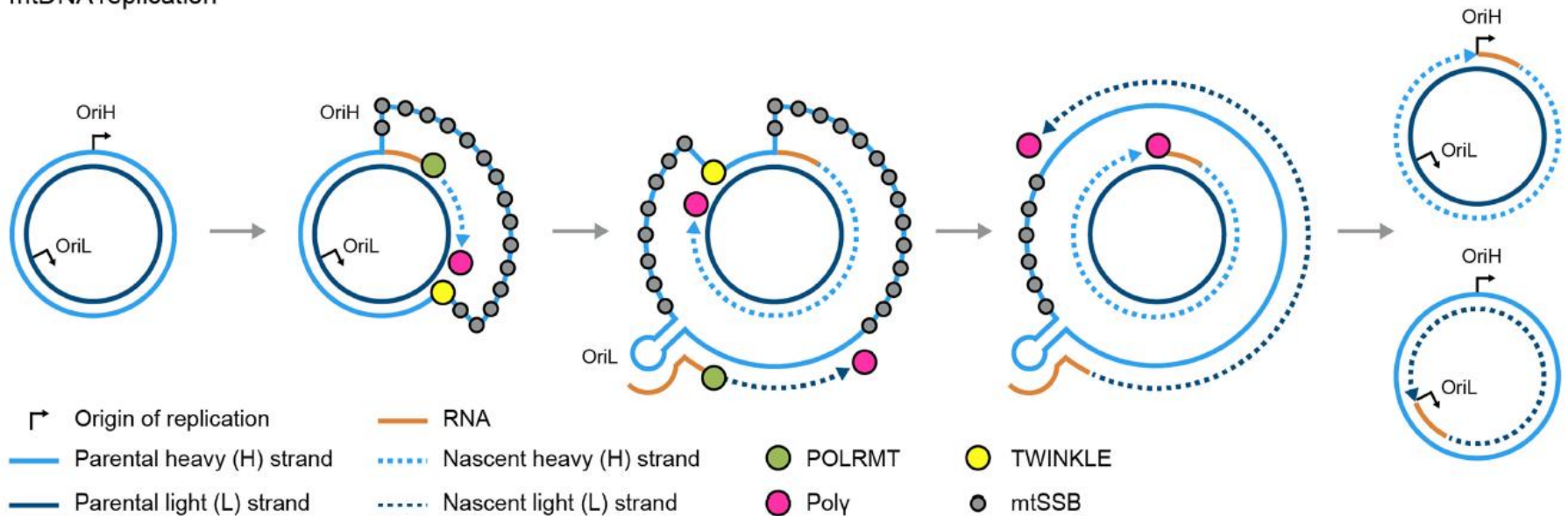


Τα γονίδια για ένζυμα της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης είναι πυρηνικά, μιτοχονδριακά ή και τα δύο;

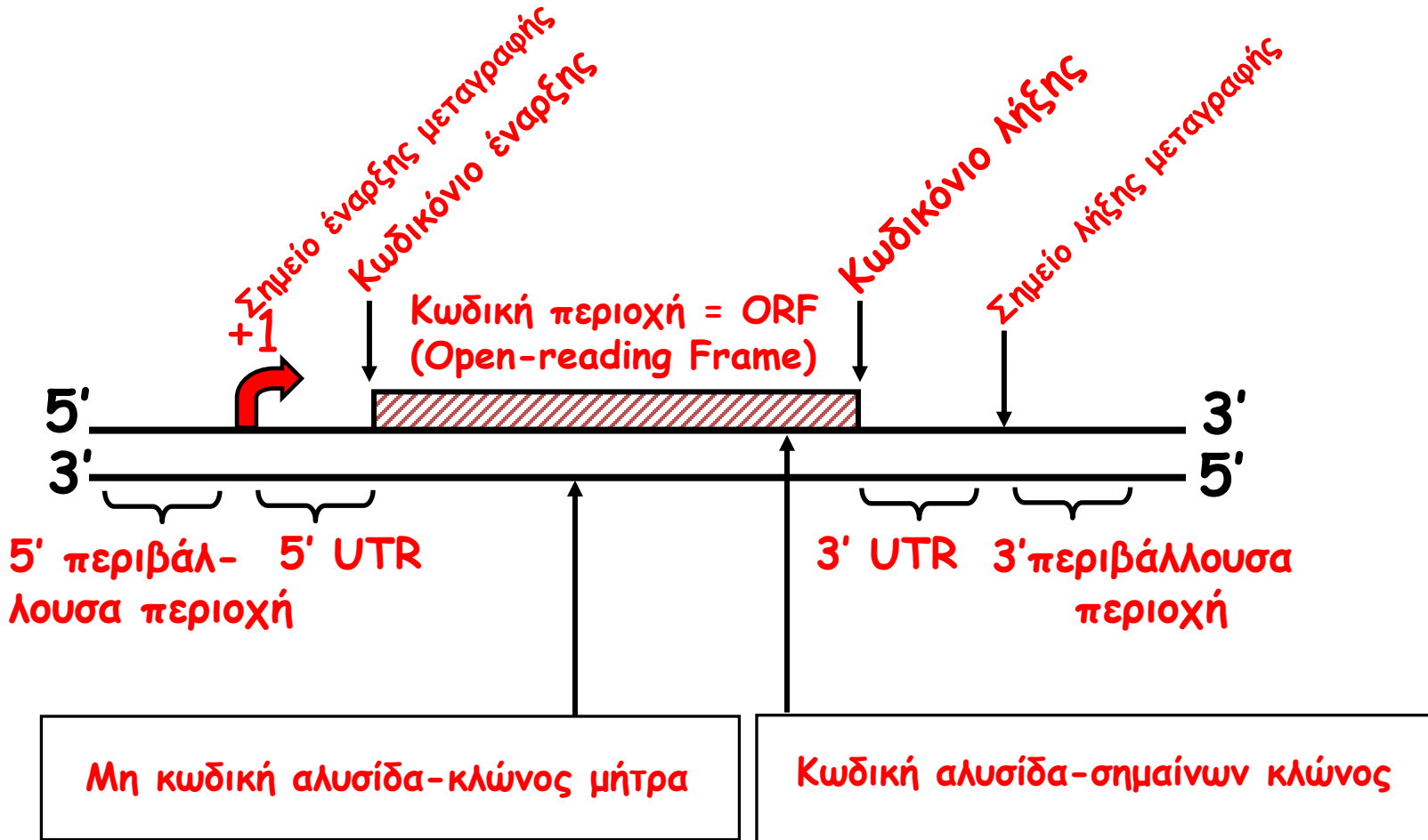
| | Subunits | Polypeptides encoded on mtDNA | Polypeptides encoded on nuclear DNA |
|---|----------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Complex I NADH dehydrogenase | 45 | 7 | ~40 |
| Complex II Succinate ubiquinone oxidoreductase | 4 | 0 | 4 |
| Complex III Ubiquinol Cytochrome c oxidoreductase | 11 | 1 | 10 |
| Complex IV Cytochrome c oxidoreductase | 13 | 3 | 10 |
| Complex V ATP synthase | 17 | 2 | 15 |

Αντιγραφή και μιτοχόνδρια

A mtDNA replication



ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ- ΕΥΚΑΡΥΩΤΕΣ



Υποκινητής= Περιοχή ανωφωρικά του 5' άκρου του γονιδίου, στην οποία δεσμεύεται η RNA πολυμεράση κατά την έναρξη της μεταγραφής

UTR =μη-μεταφραζόμενη περιοχή

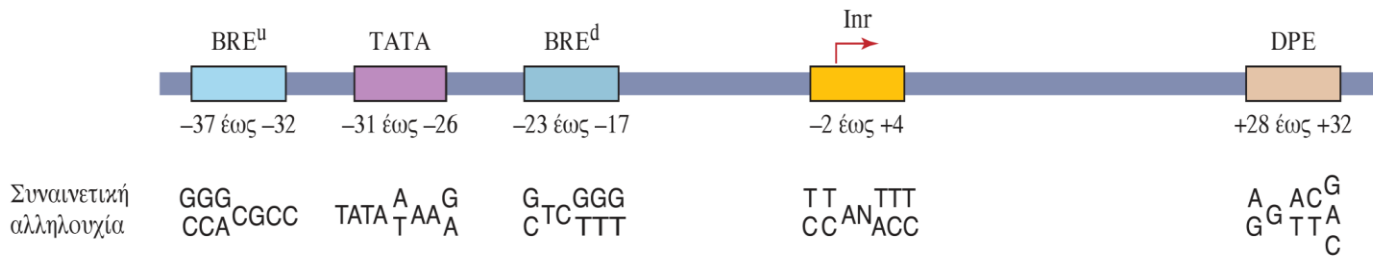
Μία μεταγραφική μονάδα μεταγράφεται σε ένα ενιαίο RNA

Υποκινητής

Ο υποκινητής καθορίζει:

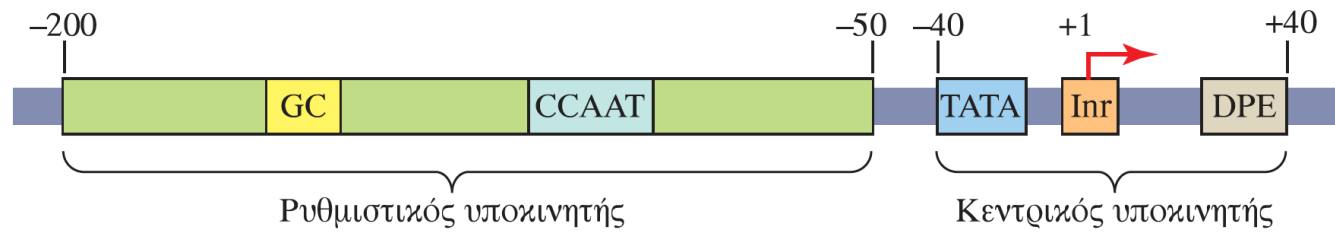
1. Ποιά αλυσίδα DNA θα μεταγραφεί.
2. Το σημείο έναρξης της μεταγραφής.
3. Συγγένεια προς την RNA πολυμεράση.
4. Συχνότητα δέσμευσης της πολυμεράσης.

Τα στοιχεία του κεντρικού υποκινητή που συμβάλλουν στη βασική μεταγραφή των πολυκύτταρων ζωικών οργανισμών



Βασικός υποκινητής: το ελάχιστο σύνολο στοιχείων αλληλουχίας που απαιτείται για την ακριβή εκκίνηση της μεταγραφής από την RNA πολυμεράση II

Ο ρυθμιστικός υποκινητής



promoter region of the *Arabidopsis HSP90-1* gene

```

-1445  tgtttgagaatctcgctgtaaatgattactcgtttccgagtgattattagtgtttgcaaatcgactctgagttgagttaggaga
-1358  cagattcatggattgagtattaagtctagcttggattcttctagcttcttgaggaaagtctttagtctcgttgattcaagtggtgt
-1271  gttcctgaaggagcttatcaagtttcaacgaggtccctgtgaaagaatctcggatttggaaacgctatgctcaaggcctatgccaac
-1184  attcacatactcaaaaggttattgaaattgttcaaaaaggatgaagcttctggaatcaaaccaaattcataactttttgaaatgtgc
-1097  tcaatgctttagtcacgagggtctagttgatgaaggagatactctttagtcagatgaaagaatcgaggattgagccgacggataa
-1010  gcattacgcttccttgggtgatgatttaggacgagctgtagattacagaacgactcgaacttatcactaatatgccgattgatcca
-923   cggaaatctgtataggggagcttataacgagtgtagcagctccacaagaacacagagcttgacatttgcagctgacaaggcttcga
-836   attaggaccagttagtccggtagcacatttcgttatccaatgcttatgacccgatggtagattcgaagacgcagctaaagctag
-749   aaaattgcttcgagaccgaggggaaaagaagaaacagagctaaagtgggttgaaggaagaaacaggttcatacattgcaagctgga
-662   gaaagcgtcatgagaaagaaaggagatataatgagaagctgctgagtttagggaaagagatggagaagcgggttacattgcagac
-575   acaagctatgttctgagagaagtggatggtgacgagaagaatcaaaccaataggatcatatgtagagattagctattgcttttggga
-488   ctgatcacgttcacgtgatagaccgatccgagtaataagaagaatctgctgagtttgcggtgattgccataacgcatcaagttcatg
-401   tccgatgtacgagacgagtgatcattgtgagagataataatcggtttcatcggtttgaagatggcaagtgttcttgaatgactat
-314   tggtagaagagacaaatgagagttggtttatatattaaccataaattcattcagttcacactgaaccggcgaatttcttccagac
-227   stattggaaattgaacaagtgagctcogaacgaaaagaacttctggaatctcttgcacaaagctaaaaacggttgatttca
-140   tcgaaatagggttcgttttcaagaagaatccagaatacactggtttctctttatttcaaaagaagagaatagaactttatttctc
-53   ctctataaaatcactttgtttttctctctctcttaataatcaacaaaacaatcacaatctctcgaacgctctcgaagtccaa
+35   atttctcttagcattctcttctcgtttctcgtttgcaatcaaagttcgttgcgATG

```

○ AP-1 (at -1445)
○ MRE (at -1271)
○ HSE 1 (at -1184)
○ C/EBP (at -836)
○ STRE (at -749)
○ AP-1/STRE (at -662)
○ C/EBP (at -314)
○ HSE 2 (at -227)
○ HSE 3 (at -140)

Haralampidis et al., 2002: Plant Physiology

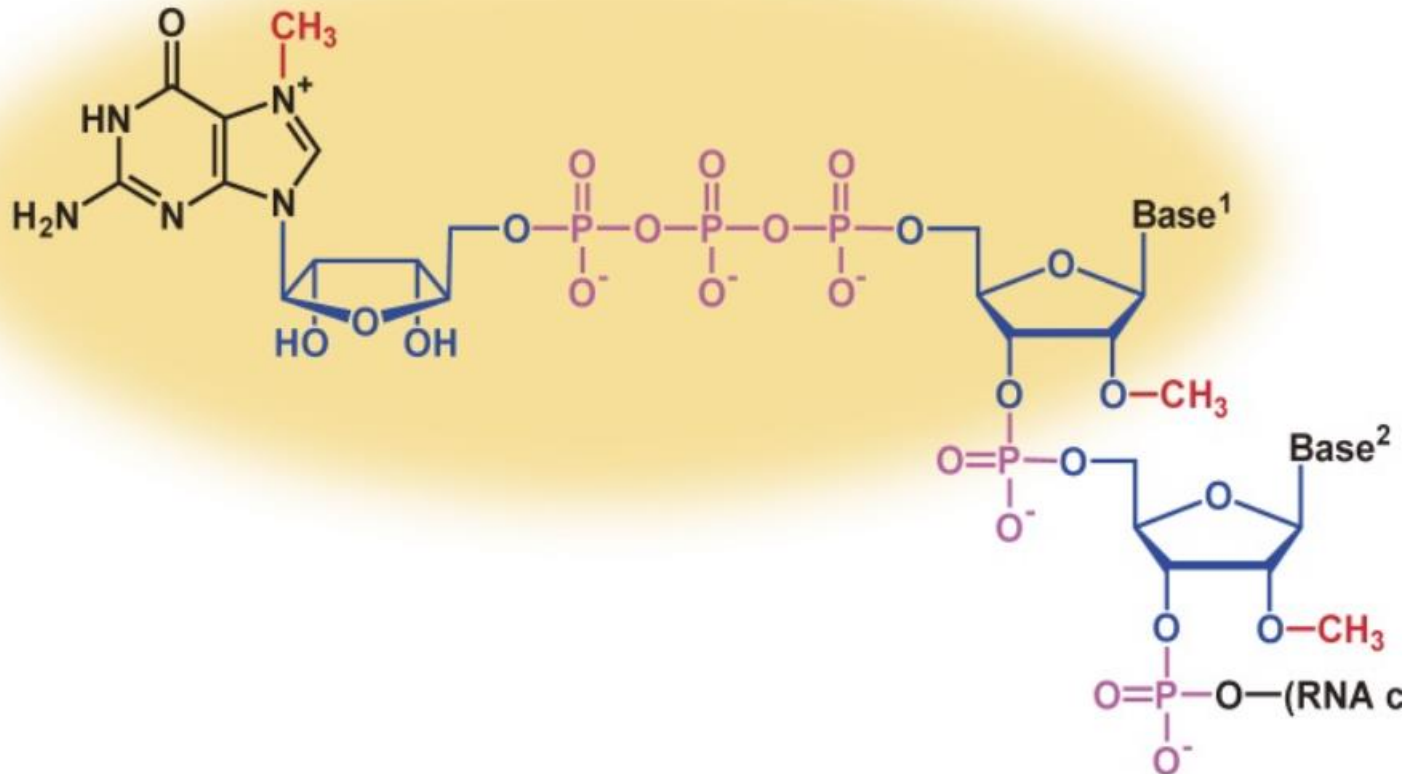
ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ – ΕΥΚΑΡΥΩΤΕΣ

RNA Processing Control

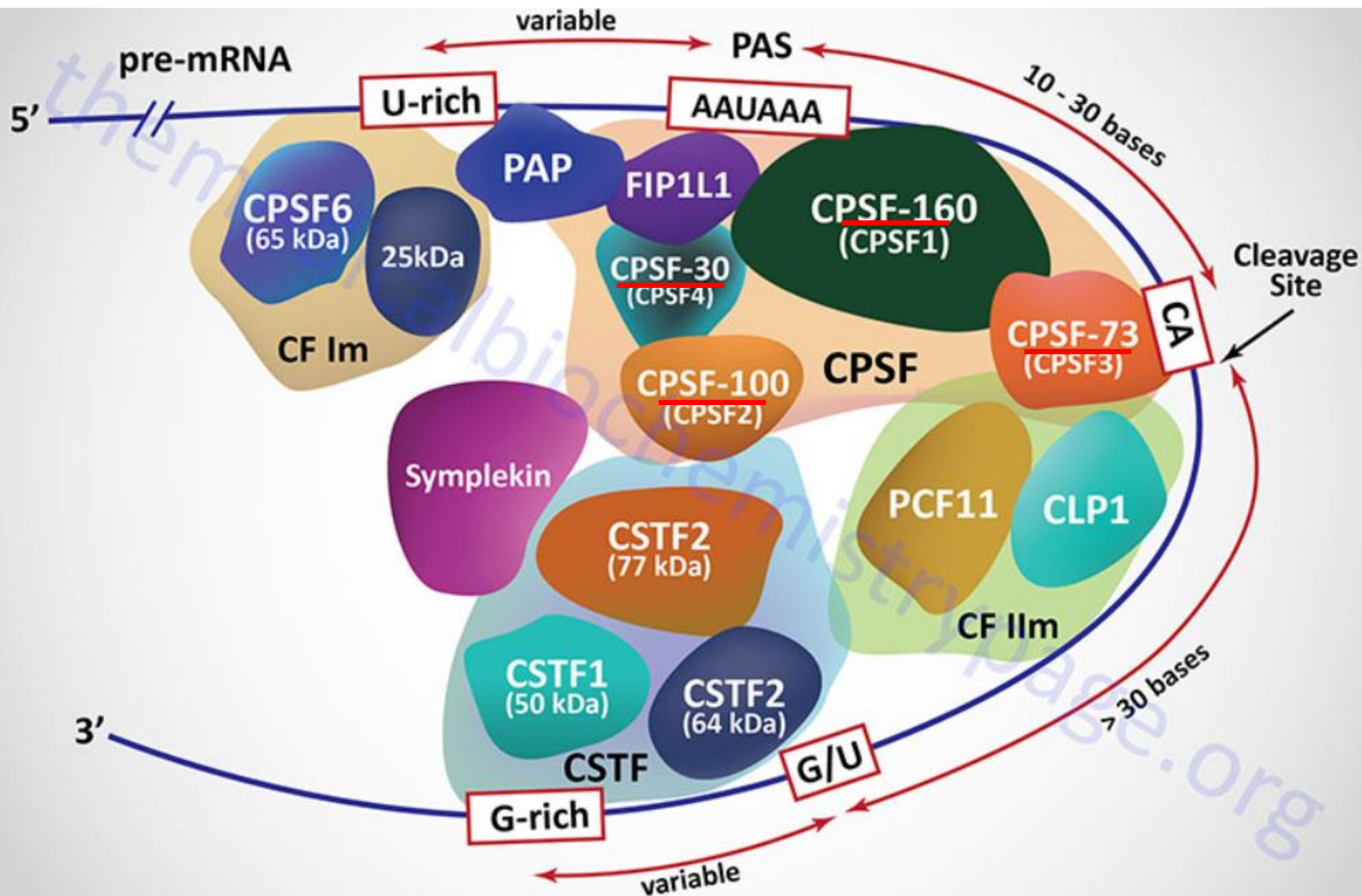
Μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις

- Προσθήκη cap στο 5' άκρο
- Προσθήκη poly-A ουράς 3' άκρο
- Απομάκρυνση ιντρονίων
- Εναλλακτική συρραφή (splicing)

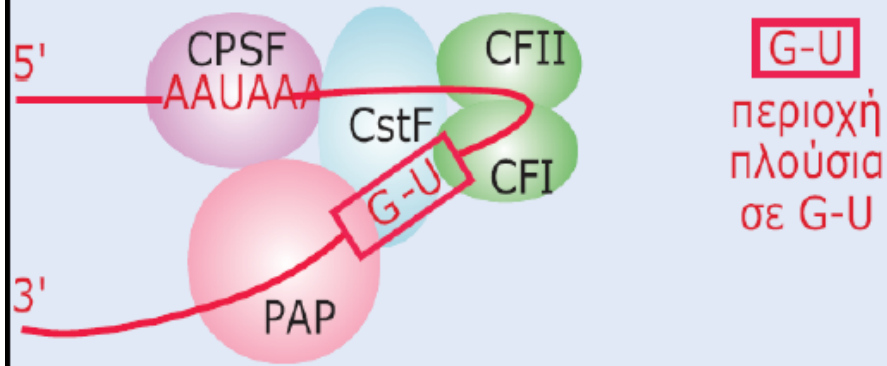
Τα ευκαρυωτικά mRNAs φέρουν στο 5'-άκρο τους μια μεθυλιωμένη καλύπτρα



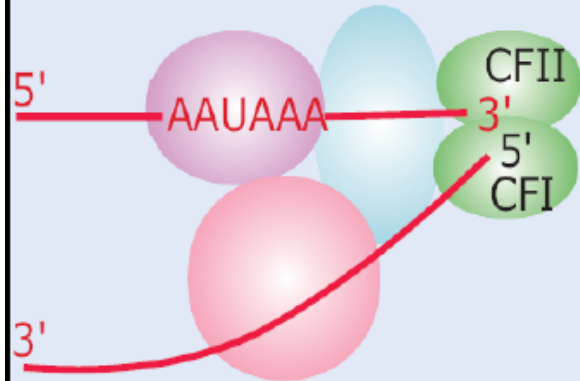
Η διαδικασία της πολυαδενυλίωσης



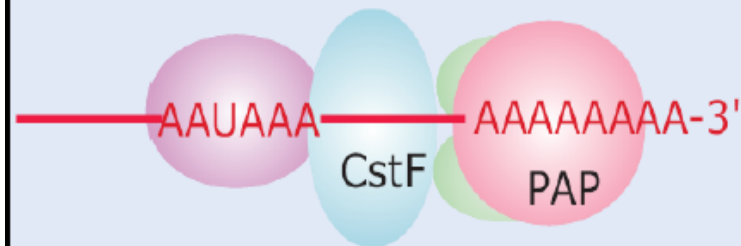
Υπάρχει ένα μόνο σύμπλοκο επεξεργασίας του 3' άκρου



Ο παράγοντας αποκοπής δημιουργεί το 3' άκρο



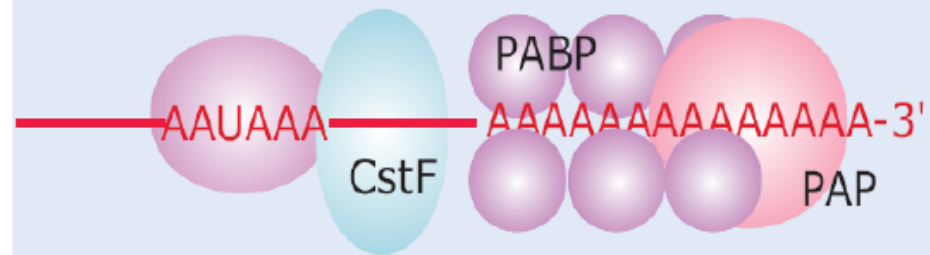
Η πολυ(A) πολυμεράση (PAP) προσθέτει κατάλοιπα A



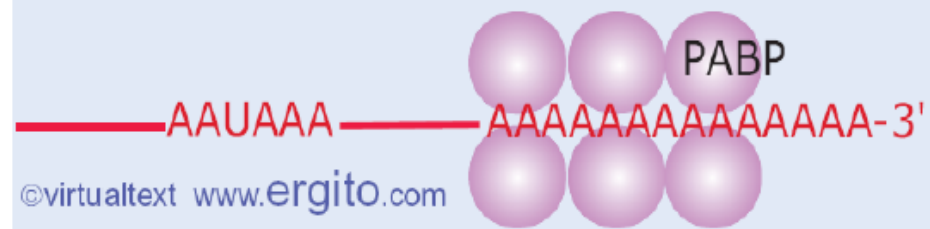
Η πολυαδενυλίωση του ευκαρυωτικού mRNA

Το σύμπλοκο επεξεργασίας του 3' άκρου περιλαμβάνει αρκετές ενζυμικές ενεργότητες. Οι παράγοντες CPSF και CstF αποτελούνται από αρκετές υπομονάδες. Τα άλλα συστατικά είναι μονομερή. Η συνολική μάζα του συμπλόκου ξεπερνάει τα 900 kD.

Η PABP προσδένεται στο πολυ(A)



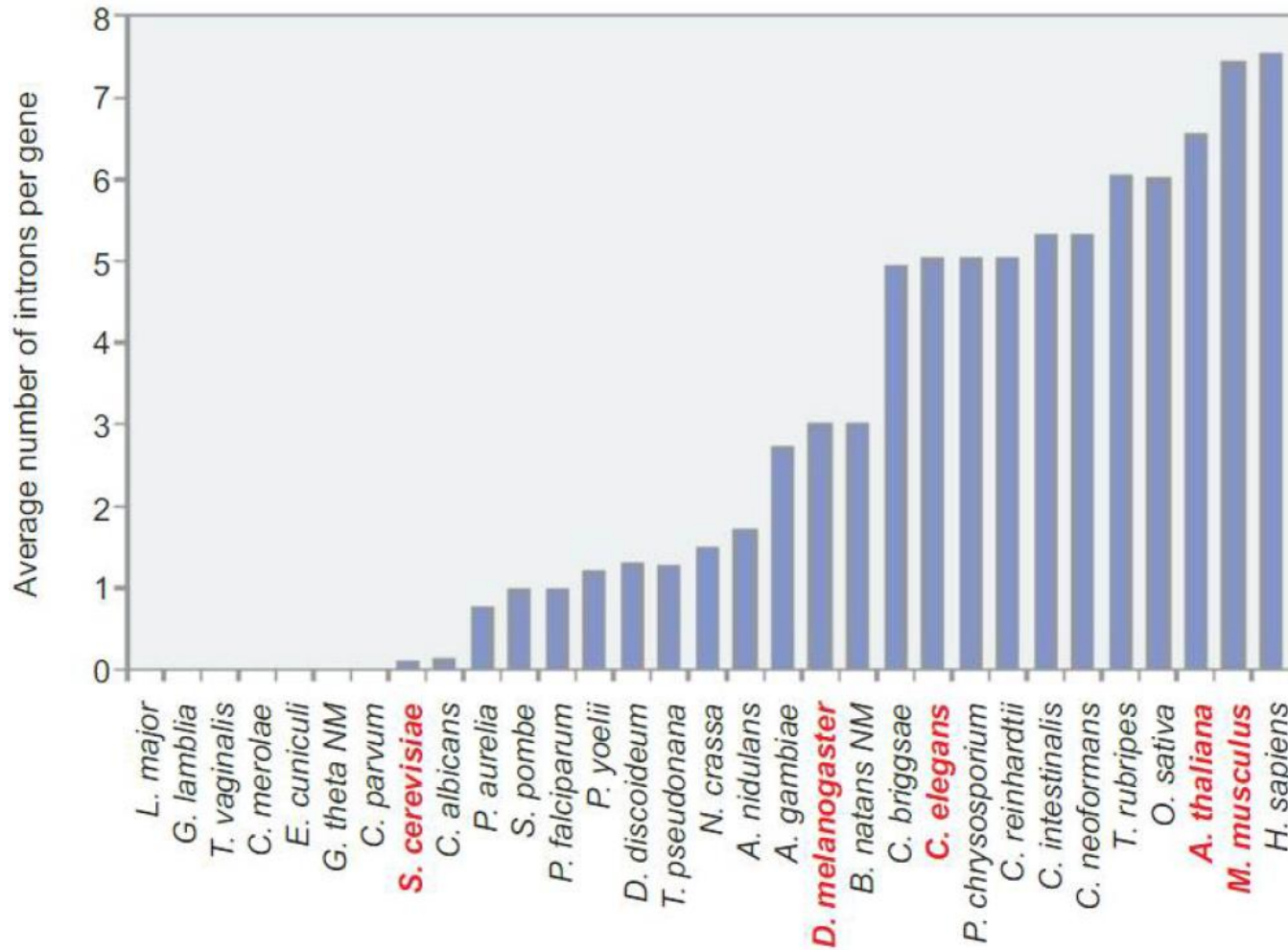
Το σύμπλοκο ελευθερώνεται μετά την προσθήκη ~200 καταλοίπων A



ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ – ΕΥΚΑΡΥΩΤΕΣ

RNA Processing Control

Αριθμός ιντρονίων ανά γονίδιο σε διάφορα είδη ευκαρυωτών



Ένα τυπικό γονίδιο στα θηλαστικά:

Συνολικό μέγεθος > 16000 bp

Αριθμός εξονίων: 7-8

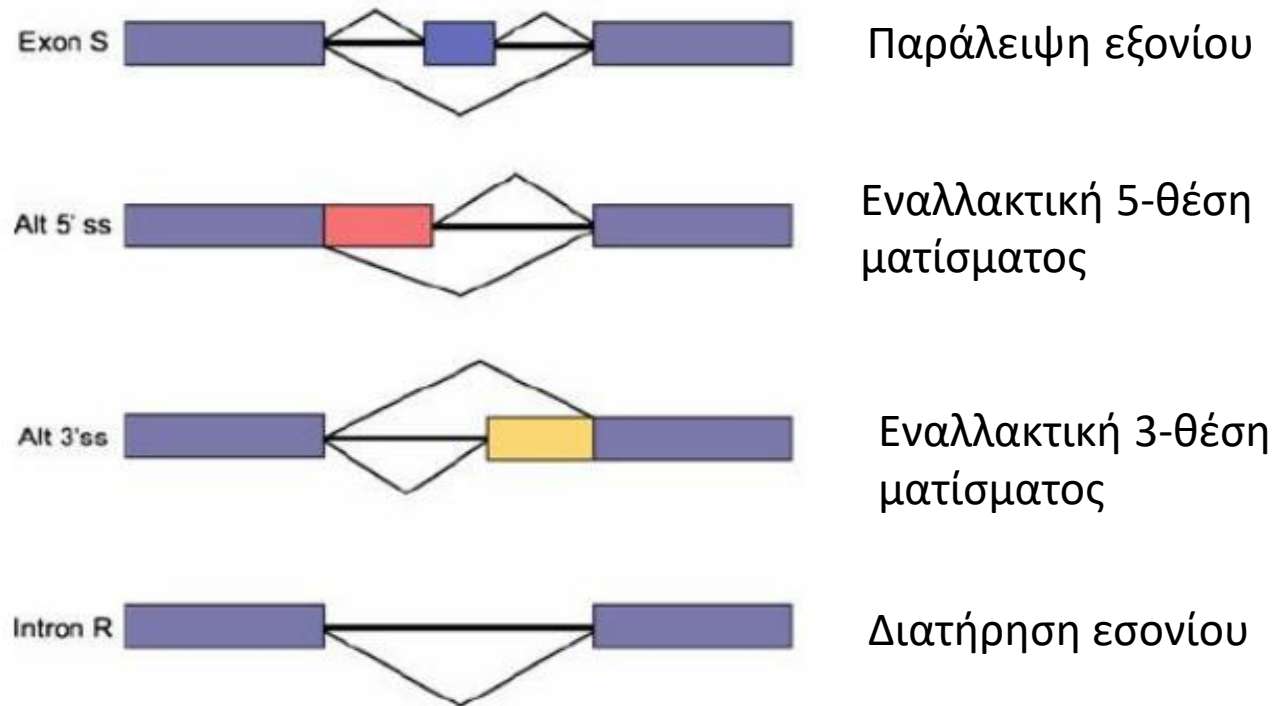
Μέγεθος κάθε εξονίου: ~100-200 bp

Μέγεθος κάθε ιντρονίου: > 1000 bp

ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ – ΕΥΚΑΡΥΩΤΕΣ

RNA Processing Control

Συνηθέστεροι τρόποι εναλλακτικού ματίσματος



Εικόνα 1.2: Απεικόνιση των τεσσάρων κύριων τύπων εναλλακτικού ματίσματος. Με μπλε χρώμα εμφανίζονται τα εξώνια, με μαύρες γραμμές τα ιντρόνια και με κόκκινο και κίτρινο χρώμα οι περιοχές που υφίστανται εναλλακτικό μάτισμα (Carvalho *et al*, 2013).

ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ – ΕΥΚΑΡΥΩΤΕΣ

Έλεγχος μεταφοράς του mRNA

- Δημιουργία καλύπτρας (5-άκρο)
- Η μη-ολοκλήρωση της συρραφής παρεμποδίζει τα mRNAs να αλληλεπιδράσουν με τα πρωτεϊνικά σύμπλοκα των πυρηνικών πόρων για εξαγωγή τους στο κυτταρόπλασμα.
- Πολυαδενυλίωση του 3- άκρου των mRNAs

Έλεγχος μετάφρασης του mRNA

- Το μέγεθος της poly-A ουράς

Έλεγχος σταθερότητας του mRNA

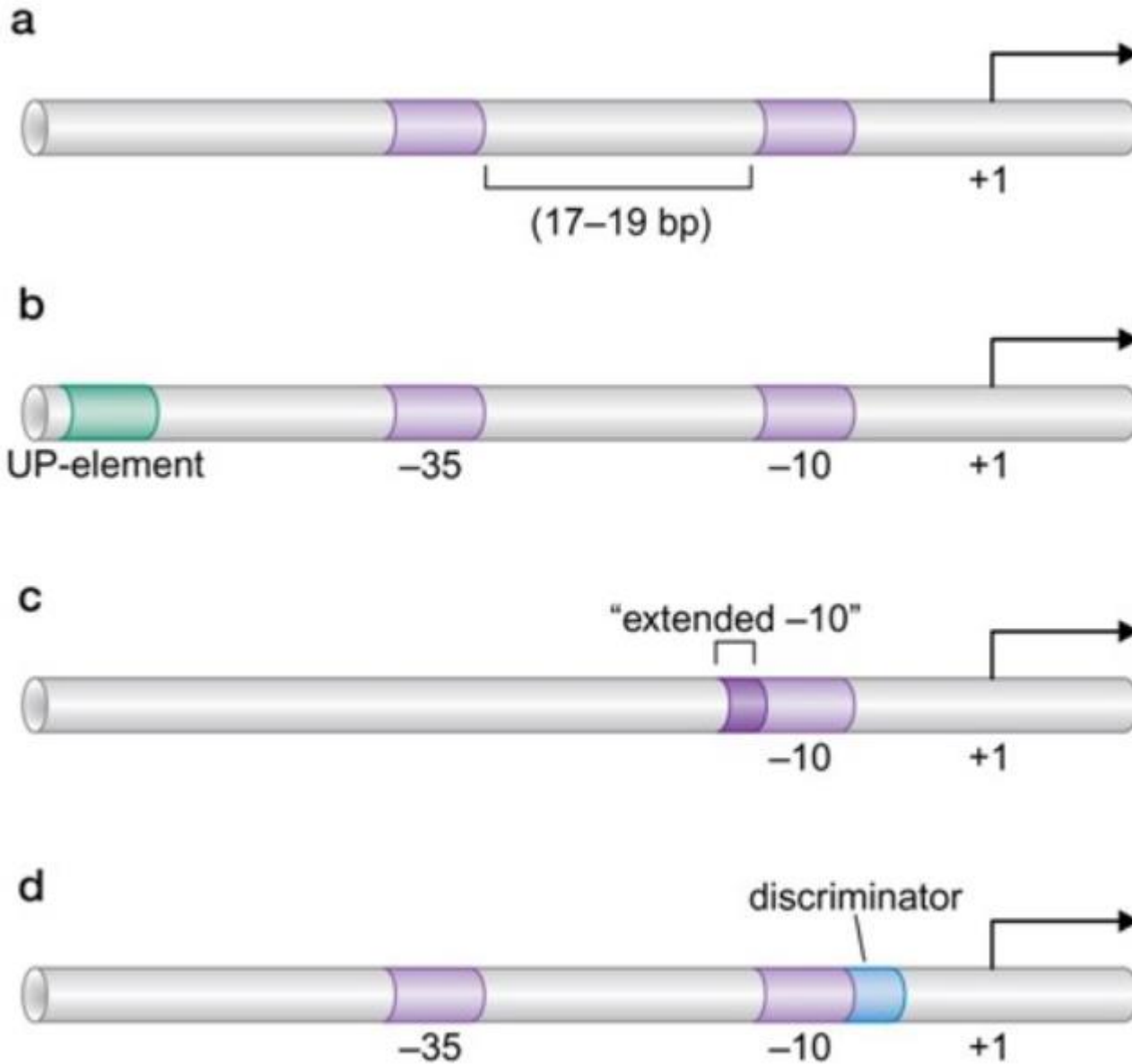
- Το μέγεθος της poly-A ουράς
- Η παρουσία της καλύπτρας

ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ-ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΕΣ

Βακτηριακή RNA πολυμεράση

- **RNA πολυμεράση (κεντρικό ένζυμο)- $\alpha_2\beta\beta'$**
 - β' - 160 kDa στο E. coli (rpoC) } Καταλυτικό κέντρο
 - β - 155 kDa στο E. coli (rpoB) }
 - α - 36.5 (x2) kDa στο E. coli (rpoA) - συναρμολόγηση ενζύμου
αναγνώριση υποκινητή
σύνδεση με ενεργοποιητές
- Το κεντρικό ένζυμο είναι ικανό να ξεκινά μεταγραφή μη εξειδικευμένα (π.χ από εγκοπές)
- **RNA Πολυμεράση ολοένζυμο- $\alpha_2\beta\beta'\sigma$**
 - Ο σ (rpoD) παράγοντας επιτρέπει την αναγνώριση του προαγωγέα από την RNA πολυμεράση και την έναρξη της μεταγραφής στην περιοχή.
 - Υπάρχουν διαφορετικοί σ παράγοντες. Ο "housekeeping" σ στο E. coli είναι ο σ^{70} (70 kDa)

Συναινετική ακολουθία υποκινητή στα βακτήρια

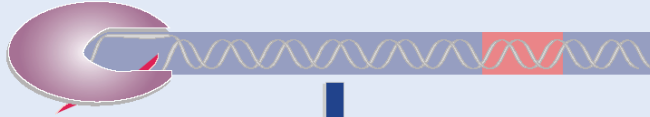


ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ-ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΕΣ

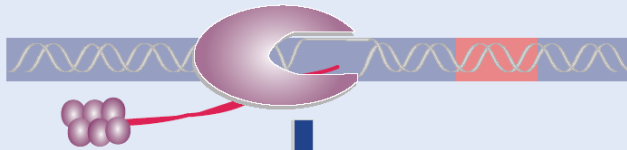
Βακτηριακή RNA πολυμεράση

Ο Rho τερματίζει τη μεταγραφή

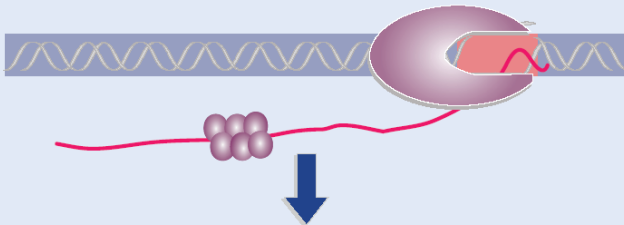
Η RNA πολυμεράση μεταγράφει το DNA



Ο Rho προσδένεται στο RNA



Ο Rho κινείται κατά μήκος του RNA ακολουθώντας την RNA πολυμεράση



Οι Rho-εξαρτώμενοι τερματιστές είναι πλούσιοι σε C και φτωχοί σε G

AUCGCUACCUCAUAUCGGCACCUCCUCAAACGCUACCUCGACCGAGAAAGCGCUCUUU

| Βάσεις | |
|--------|-----|
| C | 41% |
| A | 25% |
| U | 20% |
| G | 14% |

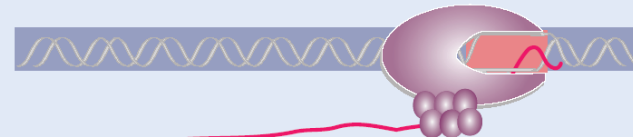
Τα ελλείμματα καταστέλλουν τον τερματισμό

Ο τερματισμός συμβαίνει σε μία από τις 3 βάσεις

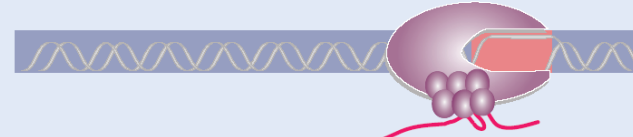
©virtualtext www.ergito.com

Ο παράγοντας Rho «καταδιώκει» την RNA πολυμεράση κατά μήκος του RNA και μπορεί να προκαλέσει τερματισμό όταν προλάβει το στάσιμο ένζυμο σε μια Rho-εξαρτώμενη αλληλουχία τερματισμού.

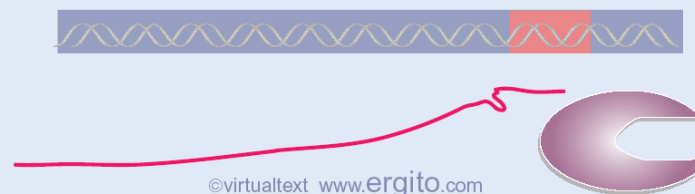
Η RNA πολυμεράση κάνει στάση στον τερματιστή και ο Rho τη φτάνει



Ο Rho αποδιατάσσει το υβρίδιο DNA-RNA



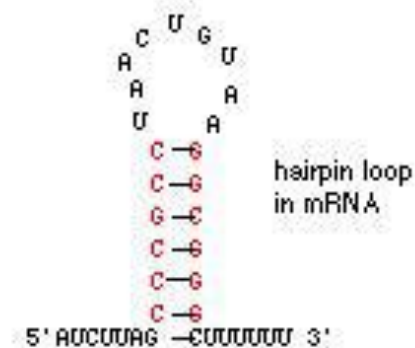
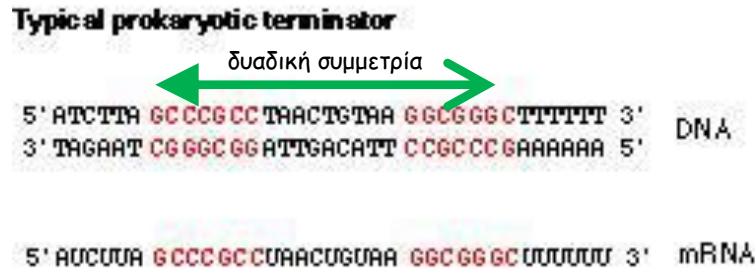
Τερματισμός: όλα τα στοιχεία ελευθερώνονται



©virtualtext www.ergito.com

ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ-ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΕΣ

Βακτηριακή RNA πολυμεράση



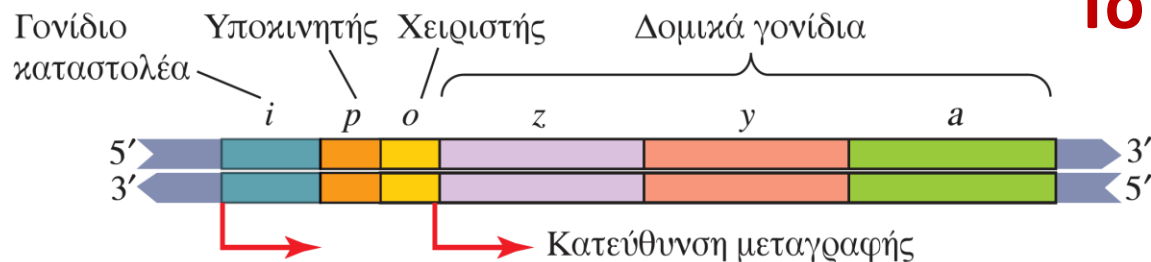
Οι ενδογενείς αλληλουχίες τερματισμού περιλαμβάνουν παλινδρομικές περιοχές οι οποίες σχηματίζουν φουρκέτες (δομές στελέχους-βρόχου) με ποικίλο μήκος, από 7-9 bp. Η δομή στελέχους-βρόχου περιλαμβάνει μια περιοχή πλούσια σε G-C και ακολουθείται από μια σειρά καταλοίπων U.

Intrinsic terminators have the two structural features, a hairpin in the secondary structure and a region that is rich in U residues at the very end of the unit. Both features are needed for termination. The hairpin usually contains a G-C-rich region near the base of the stem. The typical distance between the hairpin and the U-rich region is 7-9 bases. There are ~1100 sequences in the E. coli genome that fit these criteria, suggesting that about half of the genes have intrinsic terminators. Pausing creates an opportunity for termination to occur. Pausing occurs at sites that resemble terminators but have an increased separation (typically 10- 11 bases) between the hairpin and the U-run. But if the pause site does not correspond to a terminator, usually the enzyme moves on again to continue transcription. The length of the pause varies, but at a typical terminator lasts ~60 seconds. A downstream U-rich region destabilizes the RNA-DNA hybrid when RNA polymerase pauses at the hairpin, and when the polymerase pauses, the RNA-DNA hybrid unravels from the weakly bonded rU-dA terminal region

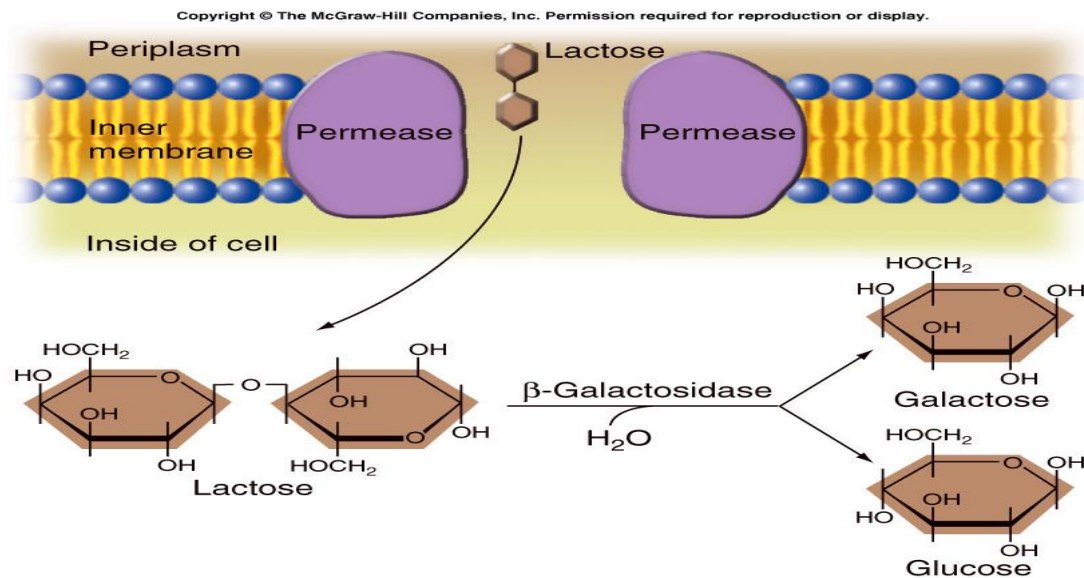
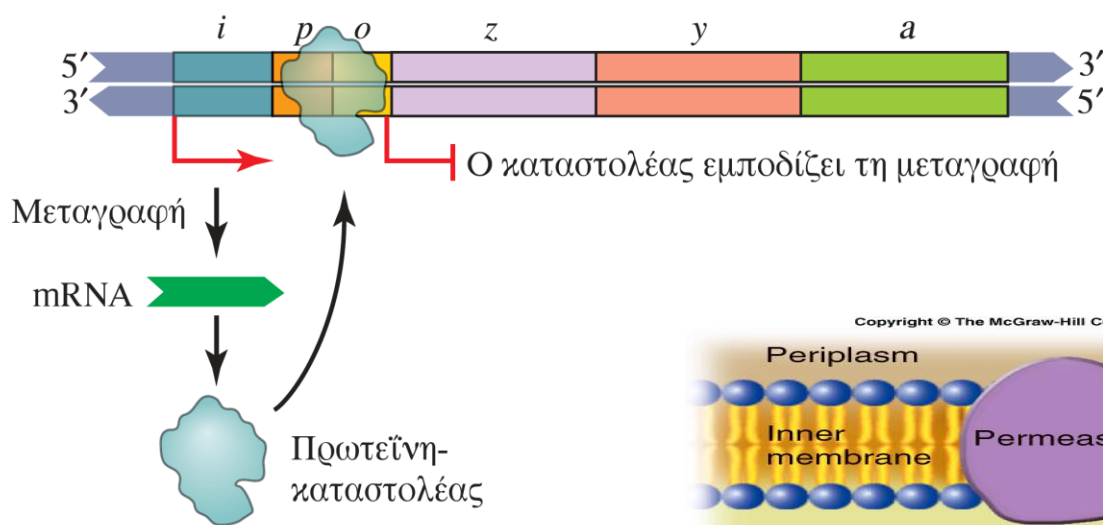
ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ-ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΕΣ

Το σπερόνιο της lac

(α)



(β)

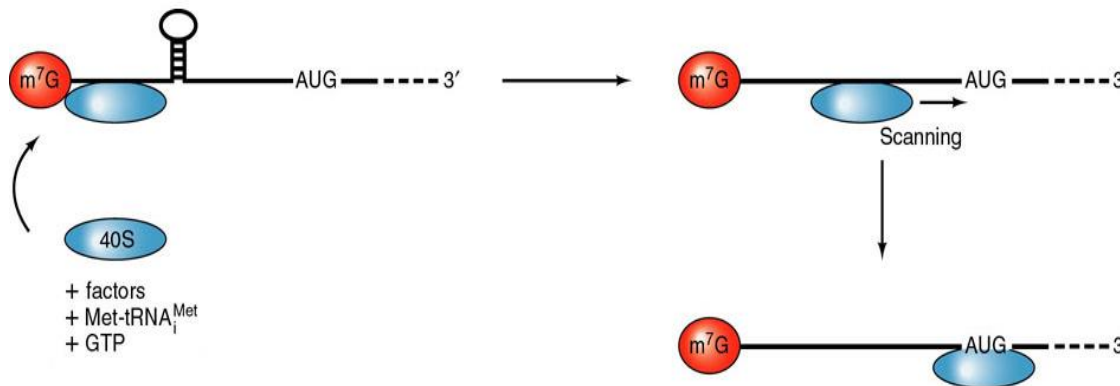


ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ-ΕΥΚΑΡΥΩΤΕΣ

(ο ρόλος του 5-UTR)

Μηχανισμός σάρωσης του ευκαρυωτικού ριβοσώματος

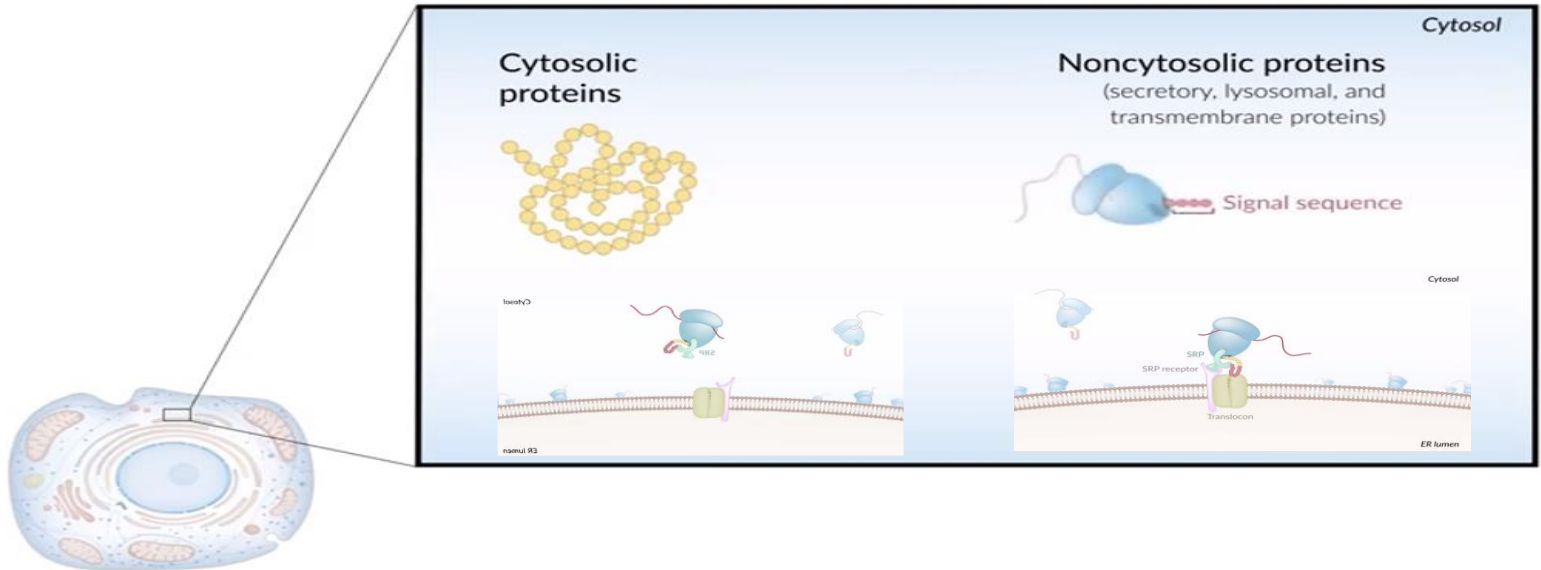
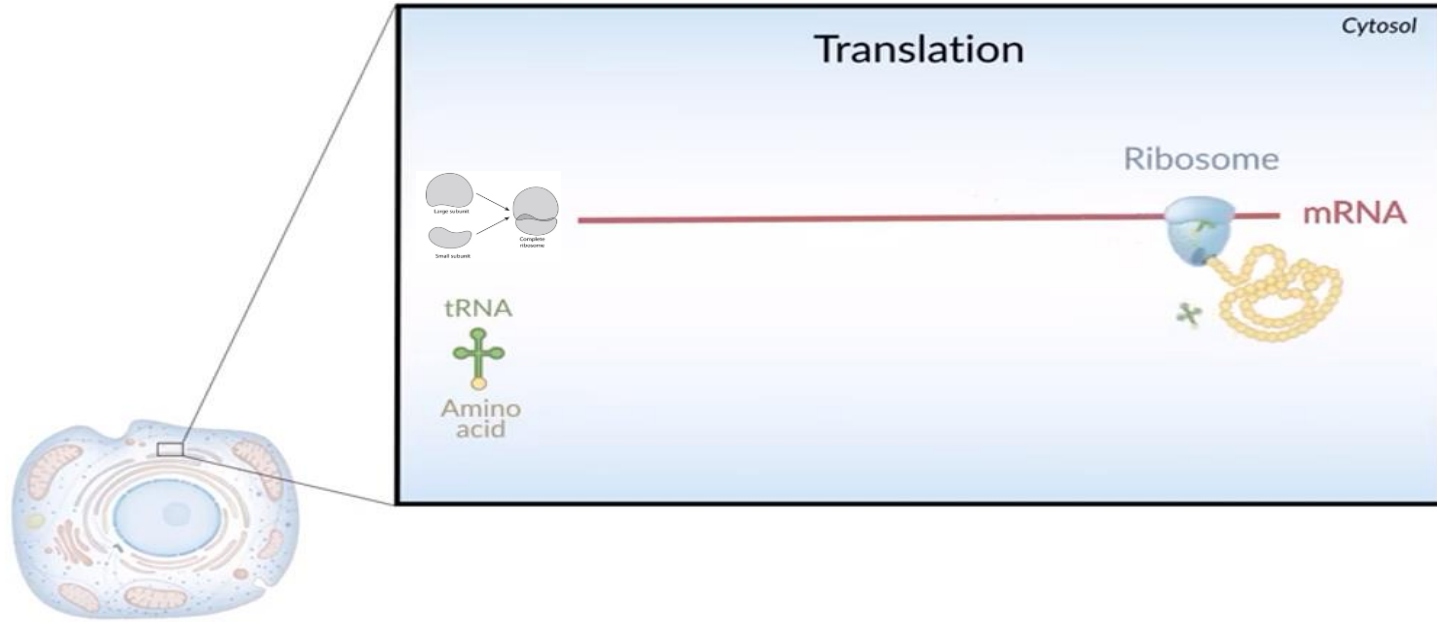
- Προτάθηκε από την Μ. Kozak
- Μικρές ριβοσωμικές υπομονάδες (παράγοντες έναρξης, GTP και tRNA^{Met}) δεσμεύονται στην 5'-καλύπτρα και σαρώνουν το mRNA μέχρι να βρουν το πρώτο AUG.
- Η μετάφραση ξεκινά από το πρώτο AUG.
- Το μοντέλο φαίνεται να ισχύει για τα περισσότερα ευκαρυωτικά mRNA



Συναινετική ακολουθία Kozak

5 -4 -3 -2 -1 +1 +2 +3 +4
C C R C C A U G G R=pu

ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ-ΕΥΚΑΡΥΩΤΕΣ (κατανομή ριβωσωμάτων)



ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ-ΕΥΚΑΡΥΩΤΕΣ (κατανομή ριβοσωμάτων)

TABLE 1

Selected compartmental gene ontology enrichments

Gene ontologies enriched for high ribosome in the density in the cytosol or ER are listed along with their p values.

| Gene ontology | p value |
|-------------------------------------|-----------|
| ER-enriched translation | |
| Kinase regulator activity | 0.0020 |
| Cell cycle arrest | 0.0065 |
| System development | 0.0095 |
| mRNA metabolic process | 0.0180 |
| Cytosol-enriched translation | |
| Phosphoinositide binding | 0.0065 |
| Receptor protein signaling pathway | 0.0080 |
| Kinase activity | 0.0195 |
| Cellular lipid metabolic process | 0.0245 |

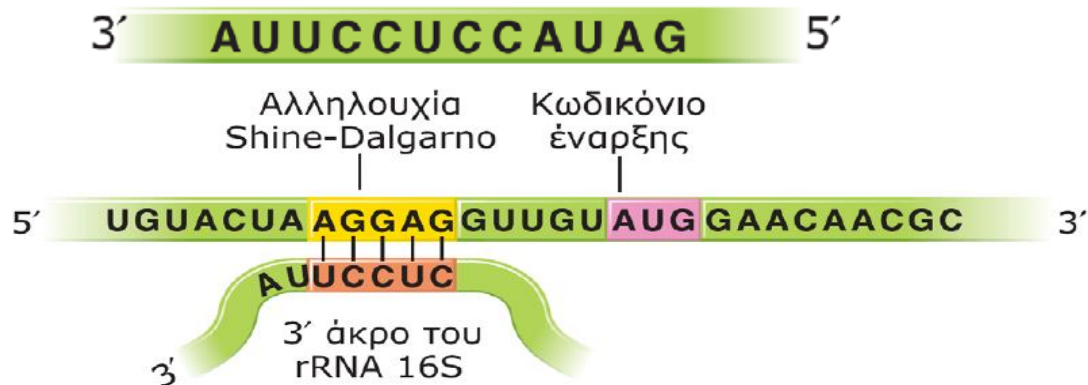
ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ-ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΕΣ

Η αλληλουχία Shine-Dalgarno

(α)

| | |
|-------------------|--|
| Λιποπρωτεΐνη | ... AUCUA GAGG GUUUAAUA AUG AAAGCUACU ... |
| RecA | ... GGCAUGAC AGGA GUAAAA AUG GCUAUCG ... |
| GalE | ... AGCCUAAU GGAG CGAAUU AUG AGAGUUCUG ... |
| GalT | ... CCCGAU UAGGA ACGACC AUG ACGCAAUUU ... |
| LacI | ... CAAUUCAG GGUG GUGAAU GUG AAACCAGUA ... |
| LacZ | ... UUCACAC AGGA AACAGCU AUG ACCAUGAUU ... |
| Ριβοσωμική L10 | ... CAUCA AGGA ACAAGCUA AUG GCUUUAAAU ... |
| Ριβοσωμική L7/L12 | ... UAUUC AGGA ACAAUUUAA AUG UCUAUCACU ... |

α) Αλληλουχία στο 3' άκρο του rRNA 16S



Οι αλληλουχίες Shine-Dalgarno (θέσεις πρόσδεσης του ριβοσώματος) διαφόρων μορίων mRNA της *E. coli*. Οι αλληλουχίες Shine-Dalgarno εντοπίζονται προς το 5' άκρο του mRNA. Τα κωδικόνια έναρξης (μπλε) βρίσκονται καθοδικά της αλληλουχίας Shine-Dalgarno. Η βέλτιστη απόσταση ανάμεσα στην αλληλουχία Shine-Dalgarno και στο κωδικόνιο έναρξης είναι 7-9 νουκλεοτίδια. (β) Το ζευγάρι των βάσεων ανάμεσα στην αλληλουχία Shine-Dalgarno και στη συμπληρωματική της αλληλουχία στο 16S rRNA διευκολύνει την αναγνώριση του κωδικονίου έναρξης και τον προσδιορισμό του σωστού αναγνωστικού πλαισίου.