

1

Δομή και λειτουργία του DNA

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο εικοστός αιώνας είναι πιθανόν να μείνει στην ιστορία της επιστήμης της βιολογίας για την ανακάλυψη της δομής του DNA και για την εύρεση των μηχανισμών, με τους οποίους η πληροφορία, που βρίσκεται κωδικοποιημένη στο DNA, μεταφράζεται σε πρωτεΐνη. Παρ' όλο που η ιστορία της σύγχρονης γενετικής του ανθρώπου ξεκίνησε περίπου 50 χρόνια πριν την ανακάλυψη της δομής του DNA, θα ξεκινήσουμε από την ανακάλυψη αυτή και μετά, διότι σήμερα η κληρονομικότητα πρέπει να εξετάζεται από τη σκοπιά των υπεύθυνων μοριακών μηχανισμών. Εδώ, λοιπόν, θα δούμε πώς η δομή του DNA θέτει τη βάση τόσο για την αντιγραφή του όσο και την ικανότητά του να κατευθύνει τη σύνθεση των πρωτεϊνών. Επίσης, θα δούμε ότι η λειτουργία ολόκληρου του συστήματος ρυθμίζεται με ιδιαίτερη ακρίβεια και πώς οι διαφορές στη δομή του DNA μπορούν να αλλάξουν τη λειτουργία του. Όπως, όμως, η ιστορία της γενετικής του ανθρώπου δεν ξεκίνησε με τη μοριακή βιολογία, έτσι δεν θα σταματήσει εκεί, καθώς σήμερα συνδυάζονται οι υπάρχουσες γνώσεις προκειμένου να εξηγηθεί η συμπεριφορά των πολύπλοκων βιολογικών συστημάτων. Παρ' όλα αυτά, η μοριακή βιολογία αποτελεί εργαλείο-κλειδί για την κατανόηση της βιολογίας, επομένως, δικαιολογημένα ξεκινάμε το ταξίδι μας από εδώ.

ΒΑΣΙΚΑ ΣΗΜΕΙΑ

- Το DNA αποτελείται από δύο αλυσίδες, οι οποίες σχηματίζουν δομή διπλής έλικας και αποτελούνται από βάσεις, σάκχαρα και φωσφορικές ομάδες. Οι δύο αλυσίδες συνδέονται μεταξύ τους μέσω των βάσεων με δεσμούς υδρογόνου ανάμεσα στην αδενίνη και τη θυμίνη ή την κυτοσίνη και τη γουανίνη. Τα σάκχαρα και οι φωσφορικές ομάδες συνιστούν τον σκελετό των δύο αλυσίδων.
- Η αντιγραφή του DNA περιλαμβάνει: αρχικά το τοπικό ξεδίπλωμα της διπλής έλικας και στη συνέχεια, την αντιγραφή της νέας αλυσίδας έχοντας ως πρότυπο την αλληλουχία καθενός από τους δύο πατρικούς κλώνους. Η αντιγραφή εξελίσσεται και προς τις δύο κατευθύνσεις ξεκινώντας από πολλά διαφορετικά σημεία πάνω στο γονιδίωμα.
- Το DNA σχηματίζει σύμπλοκα με πρωτεΐνες, δημιουργώντας ιδιαίτερα συμπαγείς ίνες χρωματινής στον πυρήνα.
- Η γενετική πληροφορία αντιγράφεται από το DNA σε ένα άλλο χημικό μόριο, το αγγελιαφόρο RNA (mRNA), μέσω μιας αυστηρά ρυθμιζόμενης διαδικασίας που σχετίζεται με την ενεργοποίηση ή την καταστολή συγκεκριμένων γονιδίων. Τα μόρια του αγγελιαφόρου RNA που προκύπτουν από τη διαδικασία αυτή υπόκεινται σε μία σειρά τροποποιήσεων στον πυρήνα, στις οποίες περιλαμβάνεται η απομάκρυνση των ιντρονίων και το μάτισμα (συναρμολόγηση) των εξονίων, προτού το μόριο βγει από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα, για να ακολουθήσει η μετάφρασή του σε πρωτεΐνη.
- Η νουκλεοτιδική αλληλουχία του αγγελιαφόρου RNA «διαβάζεται» σε τριπλέτες κωδικονίων, ώστε να κατευθύνει τη συναρμολόγηση των αμινοξέων και, τελικά, τη δημιουργία πρωτεΐνης. Η διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα στα ριβοσώματα.
- Ορισμένα γονίδια βρίσκονται μόνιμα σε καταστολή λόγω μεθυλίωσης ορισμένων βάσεων κυτοσίνης. Σε αυτά περιλαμβάνονται τα περισσότερα γονίδια που βρίσκονται πάνω στο ένα από τα δύο χρωμοσώματα X στα κύτταρα των θηλυκών ατόμων, καθώς και το ένα από τα δύο αντίγραφα στις περιπτώσεις των γονιδίων που υπόκεινται σε αποτύπωση (gene imprinting).

ΔΕΟΞΥΡΙΒΟΝΟΥΚΛΕΪΚΟ ΟΞΥ

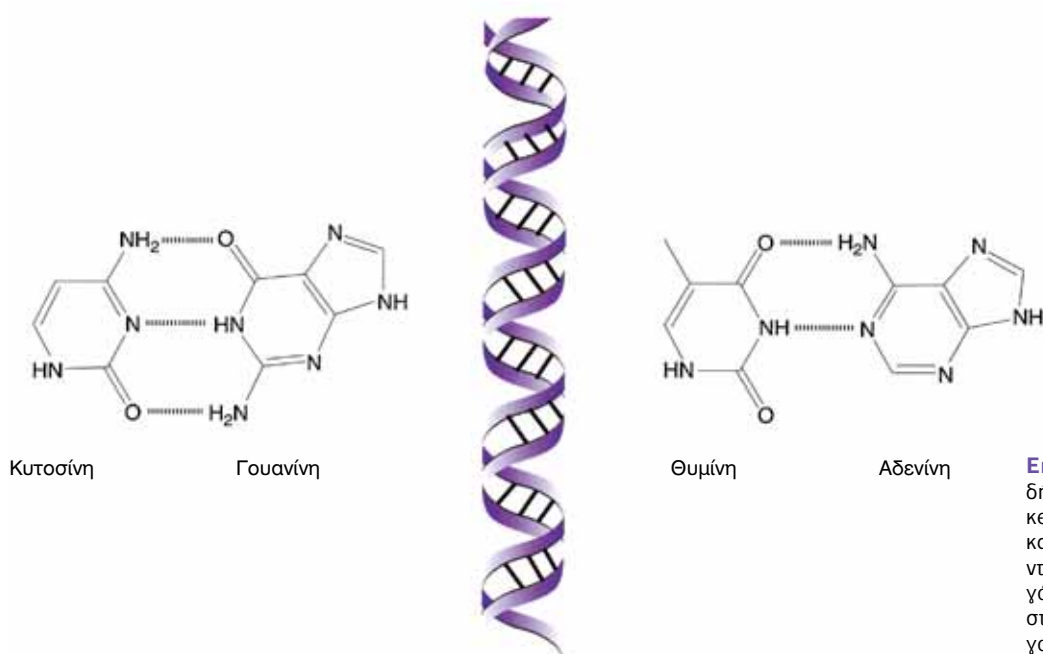
Ο Mendel περιέγραψε την επικρατή και την υπολειπόμενη κληρονομικότητα πριν ακόμα εισαχθεί η έννοια του γονιδίου και πολύ πριν αποκαλυφθεί η χημική βάση της κληρονομικότητας. Κατά τα τέλη του 19ου και στις αρχές του 20ού αιώνα οι κυτταρικοί βιολόγοι είχαν αποδείξει ότι το γενετικό υλικό βρίσκεται στον πυρήνα του κυττάρου ενώ ήταν ήδη γνωστό ότι το DNA είναι ένα βασικό χημικό συστατικό του. Για αρκετό καιρό θεωρείτο ότι το μόριο είναι υπερβολικά απλό για να ερμηνεύσει την πολυπλοκότητα της μεταφοράς της γενετικής μεταφοράς, αφού ήταν ένα μόριο που αποτελούταν από μόλις τέσσερις βάσεις (**την αδενίνη, τη γουανίνη, τη θυμίνη και την κυτοσίνη**), σάκχαρα και φωσφορικές ομάδες. Σταθμός για την αναγνώριση του ρόλου του DNA στην κληρονομικότητα αποτέλεσαν τα πειράματα του Avery και των συνεργατών του, που απέδειξαν ότι ο φαινότυπος των λείων ή των αδρών αποικιών του βακτηρίου *Pneumococcus* μπορούσε να κληρονομηθεί από κύτταρο σε κύτταρο μόνο μέσω του μορίου του DNA. Αργότερα, το 1953, ο καθορισμός της δομής του DNA από τους Watson και Crick επέτρεψε την κατανόηση των μηχανισμών, μέσω των οποίων αυτό το μόριο λειτουργεί ως φορέας κληρονομικότητας (Μέθοδοι 1.1).

Μέθοδοι 1.1

Μεντελική κληρονομικότητα στον άνθρωπο

Κατά τη δεκαετία του 1960, ο Dr. Victor McKusick και οι συνεργάτες του στην Ιατρική Σχολή του Johns Hopkins άρχισαν να οργανώνουν σε καταλόγους τα γονίδια και τα γενετικά χαρακτηριστικά του ανθρώπου. Το αποτέλεσμα ήταν η δημιουργία της πρώτης έκδοσης του καταλόγου «*Μεντελική κληρονομικότητα στον άνθρωπο*», που εκδόθηκε το 1969. Ακολούθησαν πολλές εκδόσεις μετά από αυτήν και αυτήν τη στιγμή ο κατάλογος διατηρείται στον παγκόσμιο ιστό από το National Center of Biotechnology Information (NCBI) ως Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Η ηλεκτρονική του διεύθυνση είναι: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>.

Η OMIM έχει αναγνωριστεί ως η επίσημη πηγή πληροφοριών για τα ανθρώπινα γονίδια και τα γενετικά χαρακτηριστικά. Η αναζήτηση μέσα στον κατάλογο της OMIM μπορεί να γίνει με βάση το γονίδιο, τον φαινότυπο, τον γενετικό τόπο και πολλά άλλα χαρακτηριστικά. Σε κάθε καταχώρηση ο κατάλογος περιέχει μία σύνοψη του γονιδίου ή του χαρακτηριστικού, που συμπεριλαμβάνει και μια περίληψη των κλινικών χαρακτηριστικών που σχετίζονται με μεταλλάξεις του συγκεκριμένου γονιδίου. Επίσης, διαθέτει συνδέσμους (links) με άλλες βάσεις δεδομένων, που παρέχουν πρόσβαση σε αλληλουχίες γονιδίων και αμινοξέων, μεταλλάξεις κ.λπ. Κάθε καταχώρηση έχει έναν μοναδικό, εξαψήφιο αριθμό, που ονομάζεται αριθμός MIM. Υπάρχει μία λογική ακολουθία και ένα είδος ταξινόμησης όσον αφορά στους αριθμούς MIM. Συγκεκριμένα, όλα τα αυτοσωμικά επικρατή χαρακτηριστικά έχουν αριθμό καταχώρησης MIM



Εικόνα 1.1 • Η δίκλωνη ελικοειδής δομή του DNA (κέντρο). Οι έλικες που αποτελούνται από σάκχαρα και φωσφορικές ομάδες συγκρατούνται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου που αναπτύσσονται ανάμεσα στις βάσεις αδενίνη και θυμίνη ή γουανίνη και κυτοσίνη.

που ξεκινά με 1, τα υπολειπόμενα χαρακτηριστικά με 2, τα συνδεδεμένα με το Χ με 3, τα συνδεδεμένα με το Υ με 4 και τα μιτοχονδριακά με 5. Υπάρχει και μία ακόμη κατηγορία γονιδίων που είναι καταχωρημένα με MIM που ξεκινά με 6 και περιλαμβάνει αυτοσωμικά γονίδια που ταυτοποιήθηκαν λίγο πιο πρόσφατα.

Σε αυτό το βιβλίο όλα τα γονίδια και τα γενετικά χαρακτηριστικά, στα οποία θα αναφερθούμε, θα ακολουθούνται από τον αριθμό MIM τους, ώστε να υπενθυμίζουν στον αναγνώστη ότι υπάρχει διαθέσιμη επιπλέον πληροφορία στη βάση δεδομένων της OMIM, όπου μπορεί να αναζητήσει πληροφορίες για την εκάστοτε καταχώρηση, και να διευκολύνουν την πρόσβαση σε αυτήν.

Η Δομή του DNA

Το DNA αποτελείται από ένα ζεύγος αλυσίδων, καθεμία από τις οποίες αποτελείται εξωτερικά από έναν σκελετό σακχάρων και φωσφορικών ομάδων και εσωτερικά από τις αζωτούχες βάσεις, **πυριμιδίνες** και **πουρίνες** (Εικόνα 1.1). Το σάκχαρο του σκελετού είναι η **δεοξυριβόζη** – μία ριβόζη χωρίς ένα άτομο οξυγόνου στη θέση 2'. Ο σκελετός κάθε αλυσίδας απαρτίζεται από μόρια δεοξυριβόζης και φωσφορικές ομάδες που συνδέονται με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς από τη θέση 5' μιας δεοξυριβόζης με τη θέση 3' της επόμενης.

Μέθοδοι 1.2

Απομόνωση του DNA

Το DNA, ή σε μερικές περιπτώσεις το RNA, είναι το μόριο, με το οποίο ξεκινάμε τα περισσότερα πειράματα, τα οποία έχουν ως στόχο τη μελέτη της δομής ή της λειτουργίας ενός γονιδίου. Το DNA μπορεί να απομονωθεί από κάθε κύτταρο, το οποίο διαθέτει πυρήνα. Ο ιστός που χρησιμοποιείται πιο συχνά για απομόνωση ανθρώπινου DNA είναι το περιφερικό αίμα, του οποίου τα λευκά αιμοσφαίρια αποτελούν μία εύκολα προσβάσιμη πηγή εμπύρνων κυττάρων. Άλλοι ιστοί που χρησιμοποιούνται εξίσου συχνά είναι οι ινοβλάστες δέρματος μετά από καλλιέργεια, επιθηλιακά κύτταρα προερχόμενα από το βλεννογόνο του στόματος καθώς και τα εμβρυϊκά κύτταρα που έχουν ληφθεί μετά από αμνιοπαρακέντηση ή από βιοψία χοριακών λαχνών. Επίσης, τα λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος μπορούν να μετασχηματιστούν με τον ιό Epstein-Barr σε αθανатоποιημένες κυτταρικές σειρές, ώστε να εξασφαλιστεί μόνιμη πρόσβαση σε αναπτυσσόμενα κύτταρα από ένα μόνο άτομο.

Το DNA στον πυρήνα όλων των κυττάρων βρίσκεται σε σύμπλοκα με πρωτεΐνες, οι οποίες πρέπει να απομακρυνθούν, προκειμένου να μελετηθεί και να αναλυθεί μόνο το DNA. Σε ορισμένα πειράματα είναι πολύ σημαντικό να έχουμε πολύ καθαρό DNA, πράγμα που σημαίνει ότι θα πρέπει να γίνει πέψη ή απομάκρυνση των πρωτεϊνών. Υπάρχουν, όμως, και κάποιες περιπτώσεις, στις οποίες δεν χρειάζεται να γίνει ιδιαίτερη επεξεργασία. Για παράδειγμα, μία τέτοια περίπτωση είναι το DNA που απομονώνεται από το βλεννογόνο του στόματος. Για να απομονώσουμε τη μικρή ποσότητα DNA που μας παρέχει αυτή η πηγή, δεν προσπαθούμε ιδιαίτερα να απομακρύνουμε τις τυχόν πρωτεΐνες που υπάρχουν, ώστε να μη χάσουμε ποσότητα DNA. Αυτή η διαδικασία ακολουθείται σε περιπτώσεις που θέλουμε να κάνουμε μία περιορισμένη ανάλυση συγκεκριμένων αλληλουχιών κάποιου γονιδίου. Προετοιμασία χωρίς ιδιαίτερη επεξεργασία γίνεται, επίσης, σε πολύ μικρά βιολογικά δείγματα, όπως σταγόνες αποξηραμένου αίματος, κύτταρα επιδερμίδας ή τρίχες.

Η απομόνωση του RNA περιλαμβάνει τον καθαρισμό νουκλεϊκού οξέος από τον πυρήνα ή/και από το κυτταρόπλασμα. Αυτό το RNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη των προτύπων γονιδιακής έκφρασης σε έναν συγκεκριμένο ιστό. Το RNA γενικά είναι λιγότερο σταθερό μόριο από το DNA και για τον λόγο αυτό απαιτείται ειδική μεταχείριση κατά την απομόνωσή του, ώστε να αποφευχθεί η αποδόμησή του.

Οι αλυσίδες είναι συνδεδεμένες μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου, οι οποίοι αναπτύσσονται αυστηρά μόνο ανάμεσα στην αδενίνη και τη θυμίνη ή ανάμεσα στη γουανίνη και την κυτοσίνη. Μαζί οι δύο αυτές αλυσίδες σχηματίζουν μία δίκλωνη έλικα. Οι δύο αλυσίδες είναι αντιπαράλληλες, δηλαδή έχουν αντίθετη κατεύθυνση, έτσι η μία εκτείνεται από το 5' προς το 3' ενώ η άλλη από το 3' στο 5'.

Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του DNA, στο οποίο βασίζεται η ικανότητά του να κωδικοποιεί πληροφορίες, βρίσκεται στην αλληλουχία των τεσσάρων βάσεων (Μέθοδοι 1.2). Ο αριθμός των βάσεων αδενίνης (A) είναι πάντα ίσος με τον αριθμό καυλοϊπων θυμίνης (T) και ο αριθμός των βάσεων κυτοσίνης (C) είναι πάντα ίσος με τον αριθμό των βάσεων γουανίνης (G). Αυτό συμβαίνει, γιατί όλες οι αδενίνες στην κάθε αλυσίδα είναι πάντα ζευγαρωμένες με θυμίνες στην απέναντι αλυσίδα και όλες οι κυτοσίνες είναι συνδεδεμένες μόνο με γουανίνες. Το ζευγάρι αυτό των βάσεων είναι μη ομοιοπολικό, αφού οι συμπληρωματικές βάσεις συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου.



Ποια είναι η δομή του DNA;

νου. Κάθε γουανίνη συνδέεται με τρεις δεσμούς υδρογόνου με μία κυτοσίνη και κάθε αδενίνη συνδέεται με μία θυμίνη με δύο δεσμούς, καθιστώντας έτσι το ζεύγος G-C ελαφρώς σταθερότερο θερμοδυναμικά. Επειδή όλα τα ζευγάρια της δίκλωνης έλικας περιλαμβάνουν πάντα μία πουρίνη (Α ή G) μαζί με μία πυριμιδίνη (Τ ή C), η απόσταση ανάμεσα στις δύο αλυσίδες είναι πάντα σταθερή.

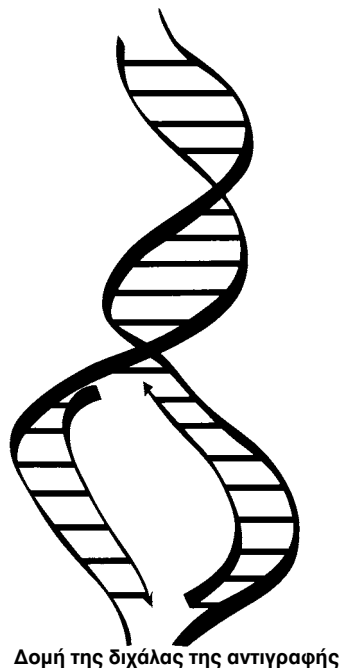
Η αντιγραφή του DNA

Η συμπληρωματικότητα της Α με τη Τ και της G με την C αποτελεί τη βάση για την αντιγραφή του DNA, γεγονός το οποίο αναγνωρίστηκε από τους Watson και Crick και αναφέρεται στην εργασία τους, όπου περιγράφεται η δομή του DNA. Για να ξεκινήσει η αντιγραφή του DNA, απαιτείται ένα τοπικό ξεδίπλωμα της δίκλωνης έλικας, καθιστώντας έτσι τον κάθε κλώνο εκμαγείο για τη σύνθεση της νέας θυγατρικής αλυσίδας (Εικόνα 1.2). Όταν υπάρχει μια γουανίνη στον κλώνο που αντιγράφεται, τοποθετείται μία κυτοσίνη απέναντί της, στη νεοσυντιθέμενη αλυσίδα. Απέναντι σε μία θυμίνη, τοποθετείται μια αδενίνη κ.ο.κ. Οι βάσεις της νεοσυντιθέμενης αλυσίδας συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου με τις βάσεις της μητρικής αλυσίδας και οι καινούργιοι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί σχηματίζονται στην αναπτυσσόμενη αλυσίδα με τη δράση του ενζύμου **DNA πολυμεράση**. Όλη αυτή η διαδικασία ονομάζεται **ημι-συντηρητική αντιγραφή**, γιατί οι νεοσυντιθέμενες δίκλωνες έλικες DNA είναι υβριδικά μόρια που αποτελούνται από έναν μητρικό κλώνο και έναν νέο «θυγατρικό». Το ξετύλιγμα της δίκλωνης έλικας πραγματοποιείται από ένα άλλο ενζυμικό σύστημα, που ονομάζεται **ελικάση**.

Υπάρχει όμως ένα εμπόδιο στη διαδικασία της αντιγραφής, το οποίο πρέπει να ξεπεραστεί. Για να ξεκινήσει ο διπλασιασμός του DNA, απαιτείται μία προϋπάρχουσα αρχική αλληλουχία μικρού μήκους, σε συνέχεια της οποίας θα αναπτυχθεί η θυγατρική αλυσίδα. Η αρχική αυτή αλληλουχία προσφέρεται μέσω μιας διαδικασίας μεταγραφής, κατά την οποία ένα μικρό μόριο RNA συντίθεται από το εκμαγείο του DNA. Στη μεταγραφή θα αναφερθούμε σε επόμενο κεφάλαιο, όπου θα δούμε τον τρόπο, με τον οποίο η γενετική πληροφορία χρησιμοποιείται για τη σύνθεση πρωτεΐνης. Το RNA είναι μονόκλωνο νουκλεϊκό οξύ, παρόμοιο με το DNA, με δύο διαφορές. Το σάκχαρο του σκελετού του RNA είναι η ριβόζη αντί για τη δεοξυριβόζη και αντί για τη θυμίνη η βάση που ζευγαρώνει με την αδενίνη είναι η ουρακίλη. Αφού, λοιπόν, συντεθεί αυτό το μικρό μόριο εκκνητή, επιμηκύνεται στη συνέχεια με τη βοήθεια της DNA πολυμεράσης (Εικόνα 1.3). Το DNA συντίθεται με κατεύθυνση από το 5' άκρο (εκτεθειμένος ο φώσφορος στον 5' άνθρακα του μορίου της ριβόζης) προς το 3' άκρο (εκτεθειμένο υδροξύλιο στο 3' άτομο άνθρακα). Στη μία από τις δύο αλυσίδες, που αναφέρεται ως **προπορευόμενη αλυσίδα (leading strand)**, αυτή η διαδικασία μπορεί να πραγματοποιείται συνεχώς, καθώς το DNA ξεδιπλώνεται. Η άλλη αλυσίδα, όμως, που ονομάζεται **καθυστερούμενη αλυσίδα (lagging strand)**, αντιγράφεται σε μικρά



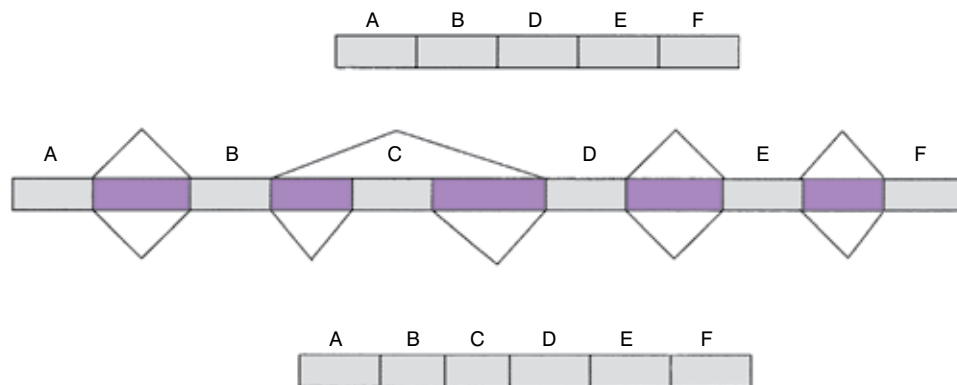
Πώς αντιγράφονται τα μόρια DNA;



Δομή της διχάλας της αντιγραφής

Εικόνα 1.2 • Η αντιγραφή του DNA περιλαμβάνει το τοπικό ξετύλιγμα της δίκλωνης έλικας και την αντιγραφή δύο θυγατρικών αλυσίδων χρησιμοποιώντας ως εκμαγείο τις αρχικές προγονικές αλυσίδες.

Εικόνα 1.11 • Εναλλακτικό μάτισμα (alternative splicing). Η απομάκρυνση κάθε ιντρονίου καταλήγει στην συνένωση των εξονίων A-F στο mRNA. Εναλλακτικά, η ένωση μπορεί να γίνει κατευθείαν ανάμεσα στα εξόνια B και D, παραλείποντας το εξόνιο C. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μίας διαφορετικής πρωτεΐνης, η οποία δεν περιέχει τα αμινοξέα που κωδικοποιούνται από το εξόνιο C.



αντιστοιχεί στη μορφή των 48kDa. Πρόσφατα αναγνωρίστηκε ένας ακόμα μηχανισμός μετα-μεταγραφικής ρύθμισης, που ονομάζεται RNA interference (παρεμβολή RNA) (Ενδιαφέρον θέμα 1.1).

Μετάφραση

Το ώριμο mRNA βγαίνει από τον πυρήνα και οδηγείται στο κυτταρόπλασμα, για να μεταφραστεί σε πρωτεΐνη. Κατά τη διάρκεια της μετάφρασης, η αλληλουχία mRNA μετατρέπεται σε αμινοξική αλληλουχία πρωτεΐνης (Εικόνα 1.13). Η μεταφραστική μηχανή αποτελείται από ένα σύμπλοκο RNA-πρωτεϊνών που ονομάζεται **ριβόσωμα**. Τα ριβοσώματα αποτελούνται από ένα σύμπλοκο πρωτεϊνών και από εξειδικευμένα ριβοσωμικά μόρια RNA (rRNA). Το ευκαρυωτικό ριβόσωμα περιέχει δύο υπομονάδες, την 60 S και την 40 S (το "S" είναι μέτρο πυκνότητας, η μονάδα Svendborg, που δηλώνει πως χαρακτηρίστηκαν τα σύμπλοκα).

Κάθε υπομονάδα του ριβοσώματος περιλαμβάνει κάποιες πρωτεΐνες και ένα μόριο rRNA. Η 60 S υπομονάδα περιλαμβάνει ένα 28S rRNA και η 40 S ένα 18S rRNA. Τα ριβοσώματα μπορεί να είναι προσδεσμένα ή όχι στο **ενδοπλασματικό δίκτυο (ER)**, το οποίο είναι γνωστό ως «αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο».



Πώς μεταφράζεται το mRNA σε πρωτεΐνη;

ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝ ΘΕΜΑ 1.1 ΠΑΡΕΜΒΟΛΗ RNA (RNA INTERFERENCE)

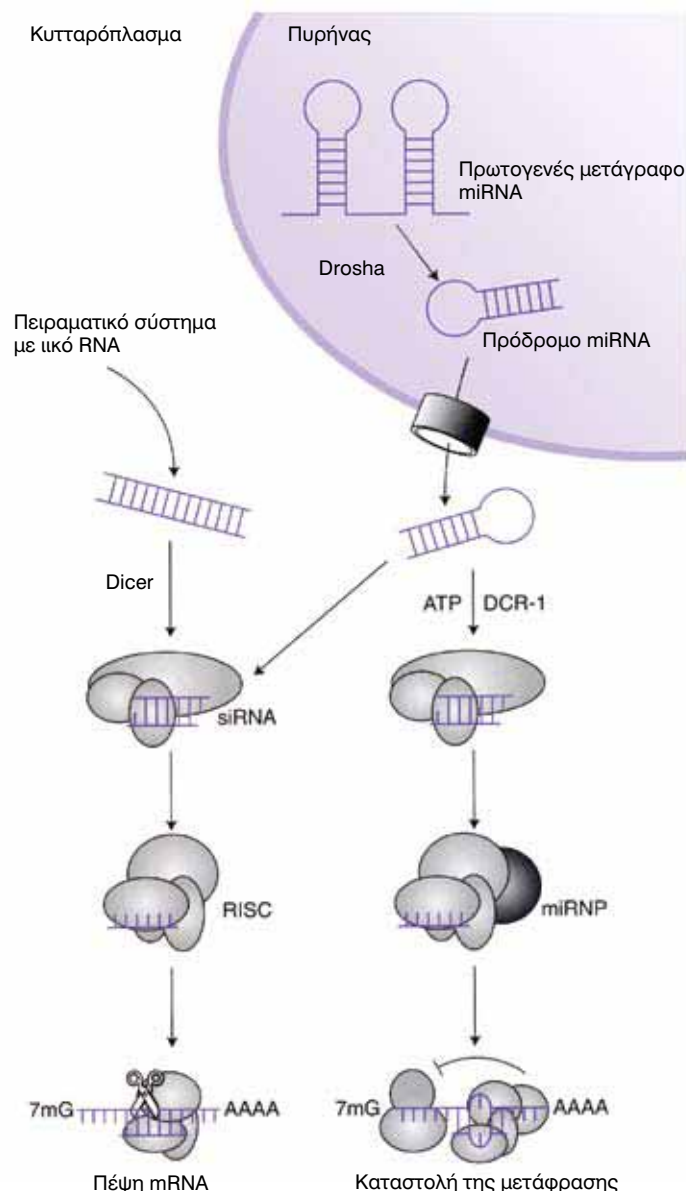
Η γονιδιακή ρύθμιση δεν περιορίζεται μόνο στο επίπεδο της μεταγραφής. Υπάρχει άλλο ένα επίπεδο ρύθμισης που συμβαίνει μετα-μεταγραφικά και ονομάζεται «παρεμβολή RNA» (RNA interference, RNAi). Η RNAi ανακαλύφθηκε στα φυτά αλλά φαίνεται να έχει κάποιον ρόλο και στα ζώα, συμπεριλαμβανομένων και των σπονδυλωτών. Η λειτουργία της στη γονιδιακή ρύθμιση άρχισε να μελετάται τα τελευταία χρόνια.

Οι μηχανισμοί της RNAi εξηγούνται στην εικόνα 1.12. Σε πειραματικά συστήματα και ίσως σε κάποιες ιικές μολύνσεις η RNAi ξεκινά με την εισαγωγή δίκλωνων μορίων RNA (dsRNA), τα οποία κβαντίζονται από το ένζυμο Dicer σε μικρά παρεμβαλλόμενα μόρια RNA (short interfering RNA, siRNA). Τα siRNA έχουν μήκος 21 έως 23 νουκλεοτίδια, είναι δίκλωνα μόρια και έχουν σε καθένα από τα άκρα τους δύο ελεύθερες βάσεις. Τα siRNA μετατρέπονται σε μονόκλωνα μόρια και συνδέονται με ειδικές πρωτεΐνες, για να σχηματίσουν το σύμπλοκο RISC (Σύμπλεγμα σίωπησης γονιδίων). Το μονόκλωνο siRNA προσδένεται σε ομόλογες αλληλουχίες πάνω στο mRNA και η RISC κόβει το RNA στο σημείο αυτό, με αποτέλεσμα να το απενεργοποιεί.

Ο ενδογενής μηχανισμός RNAi στα ζώα ξεκινά με τη μεταγραφή γονιδίων που παράγουν micro-RNAs (miRNAs), τα οποία είναι μικρά μόρια RNA που περιέχουν τμήματα με συμπληρωματικές βάσεις που επιτρέπουν στο μόριο να δημιουργεί δομές φουρκέτας. Το ένζυμο Drosha κόβει τις φουρκέτες αυτές, οι οποίες στη συνέχεια βγαίνουν στο κυτταρόπλασμα, όπου η Dicer κόβει περαιτέρω τις φουρκέτες σε μόρια miRNA που μοιάζουν με τα μόρια siRNA. Αυτά συνδέονται με πρωτεΐνες και προσδένονται στη συνέχεια σε ομόλογες αλληλουχίες, συνήθως στην περιοχή 3' κοντά στο κωδικόνιο λήξης, γνωστή με το όνομα 3' μη μεταφραζόμενη περιοχή (3' UTR, untranslated region). Η πρόσδεση του νουκλεοπρωτεϊνικού συμπλόκου στην περιοχή αυτή αναστέλλει τη μετάφραση, με άγνωστους μέχρι στιγμής μηχανισμούς.

Η RNAi έχει μελετηθεί εκτενώς στα ασπόνδυλα, όπως για παράδειγμα στον νηματώδη σκώληκα *Caenorhabditis elegans* και στη μύγα *Drosophila*. Σε αυτούς τους οργανισμούς, η RNAi εμπλέκεται στη σίωπηση γονιδίων κατά τη φυσιολογική ανάπτυξη. Ο ρόλος της RNAi στα σπονδυλωτά, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου, τώρα αρχίζει να μελετάται, αλλά και εδώ είναι πιθανόν να εμπλέκεται στη γονιδιακή ρύθμιση. Η RNAi επίσης χρησιμοποιείται και ως πειραματικό εργαλείο και ως θεραπευτική προσέγγιση. Δίκλωνα μόρια RNA μπορούν να εισαχθούν στο κύτταρο και να κοπούν, για να δημιουργήσουν siRNA ομόλογα κάθε γονιδίου που θα μπορούσε να οδηγήσει σε επιλεκτική σίγαση γονιδίων σε κύτταρα ή ιστούς, και επιτρέπει να μελετηθεί η λειτουργία των γονιδίων αυτών. Σαν θεραπευτικό εργαλείο μπορούν να σχεδιαστούν ειδικά siRNA, τα οποία θα σιγάσουν ιικά γονίδια ή θα απενεργοποιήσουν γονίδια που ενεργοποιούνται λόγω κάποιας μετάλλαξης, τόσο σε γενετικά νοσήματα όσο και σε περιπτώσεις καρκίνου.

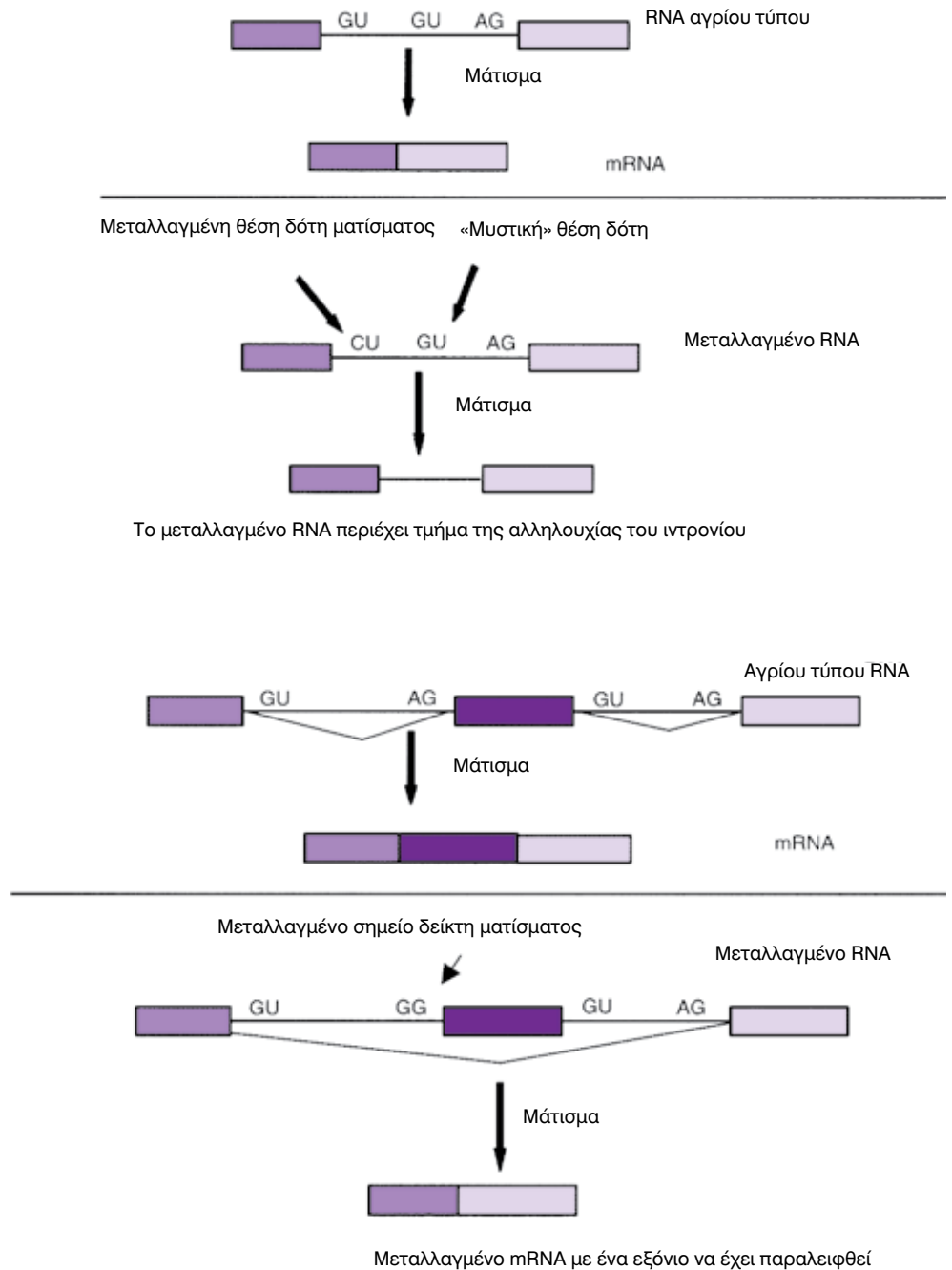
ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝ ΘΕΜΑ 1.1 ΠΑΡΕΜΒΟΛΗ RNA (RNA INTERFERENCE) (συνέχεια)



Εικόνα 1.12 • Μηχανισμοί RNAi. Δίκλωνο RNA εισάγεται στο κύτταρο είτε από κάποια μόλυνση από ιό είτε πειραματικά. Το siRNA προκύπτει από την πέψη του δίκλωνου RNA από το ένζυμο Dicer. Μονόκλωνο siRNA σχηματίζει σύμπλοκα με πρωτεΐνες και δημιουργεί το RISC, το οποίο στη συνέχεια προσδένεται στο mRNA μέσω ομόλογου ζευγαρώματος με το siRNA και κόβει το mRNA. Ενδογενή μόρια miRNA μεταγράφονται και δημιουργούν δομές φουρκέτας στον πυρήνα. Αυτά στη συνέχεια βγαίνουν στο κυτταρόπλασμα, όπου υπόκεινται σε κάποια επεξεργασία από την Dicer σε miRNA. Τα μόρια miRNA δημιουργούν σύμπλοκα με πρωτεΐνες και προσδένονται στο mRNA, συνήθως στην περιοχή 3' UTR, και αναστέλλουν τη μετάφραση. (Διασκευασμένη, κατόπιν αδείας από Macmillan Publishers Ltd: Meister G, Tuschl T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. Nature 2004;431:343-349.)

Η αλληλουχία mRNA διαβάζεται σε τριπλέτες, που ονομάζονται **κωδικόνια**, ξεκινώντας από το 5' άκρο του mRNA, που είναι πάντα AUG και αντιστοιχεί στο αμινοξύ μεθειονίνη (αν και αυτή η αρχική μεθειονίνη συχνά αποκόπτεται στη συνέχεια). Κάθε κωδικόνιο αντιστοιχεί σε ένα συγκεκριμένο συμπληρωματικό **αντικωδικόνιο**, το οποίο είναι κομμάτι ενός άλλου μορίου RNA, το οποίο ονομάζεται **μεταφορικό RNA (transfer RNA, tRNA)**. Κάθε μόριο tRNA έχει προσδεμένο ένα συγκεκριμένο αμινοξύ που καθορίζεται από την αλληλουχία του αντικωδικονίου (Πίνακας 1.1). Επομένως, η πρωτεϊνική μετάφραση εξελίσσεται με την πρόσδεση ενός ειδικού tRNA στο κατάλληλο κωδικόνιο του mRNA και το αμινοξύ που φέρει αυτό το μόριο tRNA τοποθετεί-

Εικόνα 2.7 • Μεταλλάξεις που επηρεάζουν τη διαδικασία του ματίσματος. (α) Μία μετάλλαξη στην αλληλουχία της θέσης δότη του ματίσματος, με μία επιπλέον θέση δότη που χαρακτηρίζεται ως «μυστική» (ένα GU ακολουθούμενο από μία «ελαττωματική» ομόλογη αλληλουχία, η οποία μπορεί να λειτουργήσει ως δότης, αν ο πραγματικός δότης ματίσματος είναι μεταλλαγμένος) μέσα στο ιντρόνιο, έχει ως αποτέλεσμα να συμπεριληφθεί και αυτό το ιντρόνιο στο τελικό mRNA. (β) Μετάλλαξη στη θέση δέκτη του ματίσματος έχει ως αποτέλεσμα την παράλειψη εξονίου.



Ποιοι παράγοντες αυξάνουν τον ρυθμό των μεταλλάξεων;

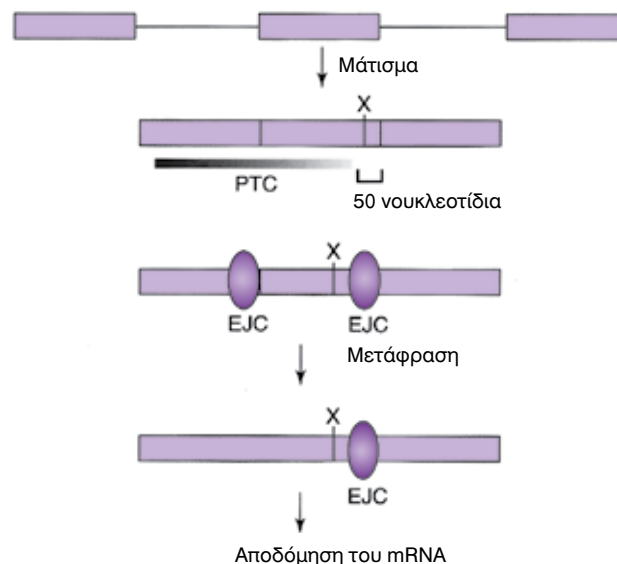
Έχει ξεκαθαριστεί, επίσης, ότι υπάρχουν ορισμένες χημικές, φυσικές και βιολογικές συνθήκες που αυξάνουν την πιθανότητα να συμβεί μία μετάλλαξη. Η μελέτη αυτών των συνθηκών είναι πολύ σημαντική καθώς οι μεταλλάξεις που προκαλούνται, μπορεί να οδηγήσουν σε συγγενείς βλάβες, γενετικές διαταραχές ή και καρκίνο, και τουλάχιστον ορισμένοι από τους παράγοντες αυτούς συμπεριέχουν έκθεση σε κάποιο περιβαλλοντικό παράγοντα, ο οποίος μπορεί να ελεγχθεί.

Τα μεταλλαξιγόνα αλλάζουν τη χημική δομή των βάσεων του DNA ή προκαλούν θραύσεις στις αλυσίδες του DNA. Πολύ συχνά συναντούμε, σε θέσεις μεταλλάξεων, ανάλογα βάσεων που ενσωματώνονται στο DNA στη θέση μιας φυσιολογικής βάσης, όπως για παράδειγμα η 5-βρωμοουρακίλη στη θέση της θυμίνης. Αυτά τα ανάλογα μπορεί να ζευγαρώσουν με λάθος βάση σε επόμενο κύκλο αντιγραφής. Επίσης, ορισμένες μεταλλάξεις προκαλούν απαμίνωση, όπως π.χ. η μετατροπή της κυτοσίνης σε ουρακίλη, ή αλκυλίωση, με αποτέλεσμα να προκαλείται διασύνδεση μεταξύ των δύο αλυσίδων του DNA. Παράγοντες παρεμβάλλονται ανάμεσα στις βάσεις του διπλού DNA και διευκολύνουν την εμφάνιση μεταλλάξεων ένθεσης. Μια άλλη τάξη

ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝ ΘΕΜΑ 2.1 ΑΠΟΔΟΜΗΣΗ ΜΕ ΤΗ ΜΕΣΟΛΑΒΗΣΗ ΜΗ ΝΟΗΜΑΤΙΚΗΣ Ή ΑΝΕΡΜΗΝΕΥΣΙΜΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗΣ

Η παρουσία ενός κωδικονίου λήξης μπορεί να προκαλέσει την αποδόμηση του mRNA μέσω μίας διαδικασίας που ονομάζεται «αποδόμηση με τη μεσολάβηση μη νοηματικής μετάλλαξης» (nonsense-mediated decay, NMD) (Εικόνα 2.8). Αυτό συμβαίνει, όταν ένα κωδικόνιο λήξης βρίσκεται περίπου 50 ή περισσότερες βάσεις ανοδικά ενός ορίου συναρμογής του εξονίου. Ορισμένα συστατικά του συμπλόκου συναρμογής παραμένουν συνδεδεμένα με τα ματισμένα εξόνια, για να δημιουργήσουν ένα σύμπλοκο ένωσης εξονίων (Exon Junctional Complex, EJC). Η αποδόμηση με τη μεσολάβηση μη νοηματικής μετάλλαξης απαιτεί ένα γύρο μετάφρασης. Αν γίνει πρόωρος τερματισμός πριν από ένα EJC, το mRNA μαρκάρεται και προορίζεται για αποδόμηση. Η αποδόμηση δεν συμβαίνει, όταν μια μετάλλαξη λήξης συμβεί στο τελικό εξόνιο, μιας και δεν υπάρχει EJC πέρα από εκείνο το σημείο.

Η αποδόμηση μέσω μη νοηματικής μετάλλαξης μπορεί να έχει σημαντική επίδραση στη φαινοτυπική έκφραση. Για παράδειγμα, μία μη νοηματική μετάλλαξη στο γονίδιο SOX10 είναι υπεύθυνη για μία διαταραχή που ονομάζεται σύνδρομο Waardenburg-Shah. Το σύνδρομο αυτό χαρακτηρίζεται από κώφωση και την παρουσία μιας χαρακτηριστικής τούφας άσπρων μαλλιών, χαρακτηριστικά τα οποία οφείλονται και τα δύο στην ανώμαλη ανάπτυξη των κυττάρων της νευρικής ακρολοφίας. Ορισμένα πάσχοντα άτομα έχουν και επιπλέον επιπλοκές, όπως περιφερειακή νευροπάθεια και νόσο Hirschprung (απώλεια νευρικών κυττάρων σε ένα τμήμα του εντέρου που οδηγεί σε απόφραξη του εντέρου). Η διαφορά αυτή ερμηνεύεται από τη διαδικασία αποδόμησης με μεσολάβηση μη νοηματικής μετάλλαξης. Τα άτομα με απλό σύνδρομο Waardenburg-Shah έχουν μεταλλάξεις σε σημεία που οδηγούν στην αποδόμηση μέσω μη νοηματικής μετάλλαξης. Αυτά τα άτομα δεν εκφράζουν το μεταλλαγμένο αντίγραφο της SOX10 πρωτεΐνης. Μεταλλάξεις υπεύθυνες για την περίπλοκη μορφή του συνδρόμου βρίσκονται σε σημεία που δεν υφίστανται αποδόμηση. Το αποτέλεσμα είναι να παράγεται μια «κοντύτερη» πρωτεΐνη, η οποία παρεμποδίζει στη λειτουργία της φυσιολογικής πρωτεΐνης, προκαλώντας σοβαρότερη διαταραχή στην ανάπτυξη της νευρικής ακρολοφίας.



Εικόνα 2.8 • Η διαδικασία της αποδόμησης μέσω μη νοηματικής μετάλλαξης. (α) Ένα κωδικόνιο λήξης (X) βρίσκεται 50 ή περισσότερες βάσεις ανοδικά από το σημείο συναρμογής. (PTC:Premature Termination Codon, κωδικόνιο πρόωρης λήξης. (β) Ένα τμήμα του σωματίου συναρμογής (spliceosome) παραμένει προσδεδομένο στα σημεία συναρμογής μετά την απομάκρυνση των ιντρονίων, όπως συμβαίνει και με το σύμπλοκο ένωσης των εξονίων (EJC). Ένας γύρος της μετάφρασης απαιτείται, για να εκτοπιστεί το EJC. Αν δεν συμβεί αυτό λόγω της παρουσίας του κωδικονίου λήξης, το mRNA αποδομείται.

μεταλλάξεων είναι αποτέλεσμα της παραγωγής ελεύθερων ριζών στον πυρήνα, που οδηγούν σε θραύση των αλυσίδων του DNA.

Η ιονίζουσα ακτινοβολία και το υπεριώδες φως είναι, επίσης, δύο φυσικά μεταλλαξιγόνα. Η ιονίζουσα ακτινοβολία μπορεί να δρα άμεσα ή έμμεσα αυξάνοντας τις ελεύθερες ρίζες στον κύτταρο. Με αυτόν τον τρόπο μπορεί να προκύψει μια μεγάλη ποικιλία μεταλλάξεων, συμπεριλαμβανομένων σημειακών μεταλλάξεων και ρηγματών των αλυσίδων DNA. Η μεγαλύτερη επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας είναι ο διμερισμός γειτονικών βάσεων θυμίνης, που έχει ως αποτέλεσμα μεταλλάξεις ελλειμμάτων (Εικόνα 2.9).

Από την άλλη πλευρά, βιολογικοί παράγοντες μπορούν επίσης να αυξήσουν τη

Πρότυπα κληρονόμησης

Είναι πιθανόν πολύ πριν αναπτυχθούν οι σύγχρονες απόψεις για τη νόσο ή ακόμα και την ιατρική πρακτική οι άνθρωποι να αναγνώριζαν ότι ορισμένα χαρακτηριστικά – καθώς και ορισμένα νοσήματα εμφανίζονται συχνότερα – σε κάποιες οικογένειες. Μόλις στις αρχές του 20ου αιώνα αναγνωρίστηκαν τα πρότυπα (μορφές) κληρονόμησης στον άνθρωπο. Η βάση για την κατανόηση της μονογονιδιακής κληρονομικότητας τέθηκε από τον Gregor Mendel, έναν μοναχό που τη δεκαετία του 1860 πειραματιζόταν με μπιζέλια σε ένα μοναστήρι στη Μοραβία, τη σημερινή Δημοκρατία της Τσεχίας. Η δουλειά του Mendel δεν αναγνωρίστηκε για δεκαετίες, μέχρι που ανακαλύφθηκε στην αρχή του προηγούμενου αιώνα από τρεις βοτανολόγους, οι οποίοι εκτέλεσαν παρόμοια πειράματα. Μέσα σε μερικά χρόνια, ο Άγγλος γιατρός Archibald Garrod αναγνώρισε την ύπαρξη οικογενειών στις οποίες χαρακτηριστικά διαχωρίζονται σύμφωνα με τους νόμους του Mendel, εγκαινιάζοντας τον τομέα της ιατρικής γενετικής.

Η μελέτη των μονογονιδιακών χαρακτηριστικών παραμένει η βασική περιοχή ενδιαφέροντος της γενετικής του ανθρώπου. Περισσότερα από 10.000 τέτοια χαρακτηριστικά έχουν καταγραφεί. Από ιατρική σκοπιά πολλά είναι πολύ σπάνια, με συχνότητα εμφάνισης μικρότερη από ένα στα 100.000 άτομα. Ορισμένα είναι πιο συχνά, αν και οι περισσότερες κοινές παθήσεις φαίνεται να καθορίζονται από συνδυασμούς γονιδίων που αλληλεπιδρούν το ένα με το άλλο και με το περιβάλλον. Σε αυτό το κεφάλαιο θα επικεντρωθούμε στα πρότυπα της γενετικής μεταβίβασης, συμπεριλαμβανομένης και της μεντελικής κληρονόμησης, της πολυπαραγοντικής κληρονόμησης και ορισμένες πρόσφατα ταυτοποιημένες ειδικές περιπτώσεις και εξαιρέσεις στο μεντελικό μοντέλο. Επίσης, θα δούμε πώς τα μοντέρνα εργαλεία της μοριακής γενετικής αρχίζουν να αποκαλύπτουν τους μηχανισμούς που βρίσκονται κάτω από αυτά τα πρότυπα.

ΒΑΣΙΚΑ ΣΗΜΕΙΑ

- Ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτηριστικό εκφράζεται μόνο σε άτομα που είναι ομόζυγα για το χαρακτηριστικό αυτό.
- Ένα αυτοσωμικό επικρατές χαρακτηριστικό θα εκφραστεί τόσο σε ομοζυγώτες όσο και σε ετεροζυγώτες. Παρ' όλα αυτά, πολλές ανθρώπινες αυτοσωμικές επικρατείς διαταραχές είναι θανατηφόρες σε ομόζυγη κατάσταση.
- Φυλοσύνδετα χαρακτηριστικά μεταβιβάζονται με το Χ ή το Υ χρωμόσωμα. Ένα φυλοσύνδετο στο Χ χαρακτηριστικό ποτέ δεν μεταβιβάζεται από αρσενικό σε αρσενικό άτομο.
- Ψευδοεπικρατή κληρονομικότητα έχουμε όταν ένα ομόζυγο άτομο και ένα ετερόζυγο ζευγαρώσουν. Ένα υπολειπόμενο χαρακτηριστικό με αυτόν τον τρόπο θα έχει κάθετη μεταβίβαση. Αυτό συμβαίνει κυρίως με χαρακτηριστικά που είναι σχετικά κοινά.
- Η διγονιδιακή κληρονομικότητα περιλαμβάνει την ύπαρξη ενός χαρακτηριστικού σε ένα άτομο που είναι ετερόζυγο σε δύο γενετικούς τόπους ταυτόχρονα.
- Διεσδυτικότητα είναι η εμφάνιση ενός φαινότυπου σε ένα άτομο με τον παθολογικό γονότυπο. Μη διεσδυτικά άτομα δεν εκφράζουν τον φαινότυπο. Μπορεί να υπάρχει ένα εύρος εκφραστικότητας ανάμεσα στα άτομα με το φαινότυπο.
- Σποραδικές περιπτώσεις εξηγούνται από νέες μεταλλάξεις. Ορισμένα άτομα είναι μωσαϊκά για μία μετάλλαξη αν η αυτή εμφανιστεί μετά τη δημιουργία του ζυγωτού. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η μετάλλαξη περιορίζεται μόνο στα κύτταρα της γαμετικής σειράς.
- Τα αποτελέσματα της γονιδιωματικής αποτύπωσης μπορεί να οδηγήσουν σε διαταραχή, μόνο αν το γονίδιο που έχει κληρονομηθεί από τον γονέα εκείνον, του οποίου το αντίγραφο του γονιδίου εκφράζεται.

- Διαταραχές που σχετίζονται με τον μηχανισμό δυναμικών μεταλλάξεων (επαναλήψεις τρινουκλεοτιδίων) παρουσιάζουν το φαινόμενο της επίσπευσης, κατά το οποίο γίνεται πιο σοβαρή σε κάθε επόμενη γενιά.
- Κάθε μιτοχόνδριο περιέχει πολλαπλά αντίγραφα ενός κυκλικού δίκλωνου μορίου DNA που κωδικοποιεί για ορισμένες από τις πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην οξειδωτική φωσφορυλίωση, καθώς και μίας ομάδας tRNA και rRNA.
- Το μιτοχονδριακό DNA κληρονομείται από τη μητέρα, γι' αυτό τα μιτοχονδριακά χαρακτηριστικά μεταβιβάζονται πάντα από τη γυναίκα σε όλα τα παιδιά της.
- Τα μιτοχόνδρια διαχωρίζονται παθητικά κατά την κυτταρική διαίρεση. Μπορεί να υπάρχει μείγμα μιτοχονδρίων μεταλλαγμένου και αγρίου τύπου στο ίδιο κύτταρο, φαινόμενο που αναφέρεται ως ετεροπλάσμια.

Μέθοδοι 3.1

Πώς παίρνουμε το οικογενειακό ιστορικό του ασθενούς

Η λήψη ενός σωστού οικογενειακού ιστορικού είναι πολύ σημαντική για την ιατρική πρακτική. Προφανώς είναι σημαντικό, αν το άτομο που ζητά γενετική καθοδήγηση εξαιτίας οικογενειακού ιστορικού γενετικού νοσήματος. Εντούτοις, συχνά, το άτομο δεν συνειδητοποιεί τη σημασία μιας πάθησης σε έναν συγγενή και δεν δίνει την πληροφορία εκτός και αν ερωτηθεί ειδικά γι' αυτή. Οικογενειακό ιστορικό τριών γενεών, που θα περιλαμβάνει πληροφορίες για τα αδέρφια, τους γονείς και τους παππούδες, αποτελεί την ορθή πρακτική. Το γενεαλογικό δέντρο κατασκευάζεται χρησιμοποιώντας τα σύμβολα της Εικόνας 3.1. Μερικές συμβουλές για να κατασκευάσετε ένα ολοκληρωμένο και σωστό οικογενειακό ιστορικό, είναι:

- Αν ένα άτομο αναζητά ιατρική συμβουλή για ένα συγκεκριμένο πρόβλημα, ρωτάμε αν έχουν και άλλοι συγγενείς παρόμοιο πρόβλημα.
- Όταν ρωτάμε για τους αδελφούς και τις αδελφές, ρωτάμε και αν υπήρχε αδελφός ή αδελφή που να έχει πεθάνει, διότι συχνά αναφέρονται μόνο τα αδέρφια που ζουν.
- Ζητάμε πληροφορίες για νεογνικούς θανάτους και αποβολές.
- Δίνουμε ιδιαίτερη προσοχή σε αδέρφια που δεν έχουν κοινούς και τους δύο γονείς.
- Ρωτάμε για γάμους μεταξύ συγγενών.
- Ρωτάμε για την εθνική προέλευση των διαφορετικών κλάδων της οικογένειας.
- Όπου είναι δυνατόν, προσπαθούμε να εξασφαλίσουμε τεκμηριωμένα στοιχεία (π.χ. ιατρικά αρχεία) για σημαντικά σημεία του οικογενειακού ιστορικού. Συχνά μέλη της οικογένειας θεωρούν ότι κάποιος συγγενής πάσχει από διαταραχή που πιστεύεται ότι «υπάρχει στην οικογένεια», στηριζόμενα σε επιπόλαιες πληροφορίες, οι οποίες μπορεί να είναι ανακριβείς.

ΜΕΝΤΕΛΙΚΗ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑ

Η βάση για να κατανοήσουμε σήμερα το γενετικό διαχωρισμό είναι ότι ένας διπλοειδής οργανισμός περιέχει δύο αντίγραφα κάθε γονιδίου (εκτός από εκείνα που βρίσκονται στα φυλετικά χρωμοσώματα). Ένα αντίγραφο από κάθε γονίδιο κληρονομείται από τον κάθε γονέα. Αυτά τα αντίγραφα των γονιδίων διαχωρίζονται κατά τον σχηματισμό των απλοειδών γαμετικών κυττάρων και επανενώνονται στη γονιμοποίηση. Το κάθε αντίγραφο ενός συγκεκριμένου γονιδίου ονομάζεται αλληλόμορφο. Η γενετική σύσταση ενός ατόμου ως προς ένα συγκεκριμένο χαρακτηριστικό αναφέρεται ως γονότυπος, ενώ η αντίστοιχη φυσική εκδήλωση του χαρακτηριστικού είναι ο φαινότυπος. Στη γενετική του ανθρώπου, τα χαρακτηριστικά μπορούν να μεταβιβαστούν ως αυτοσωμικά ή φυλοσύνδετα, επικρατή ή υπολειπόμενα. Το φύλο καθορίζεται από το X και το Y χρωμόσωμα. Ένα αρσενικό άτομο έχει ένα χρωμόσωμα X και ένα Y ενώ ένα θηλυκό άτομο έχει δύο X χρωμοσώματα. Τα γονίδια εκείνα που βρίσκονται πάνω στα φυλετικά χρωμοσώματα ονομάζονται φυλοσύνδετα, ενώ τα μη φυλοσύνδετα γονίδια ονομάζονται αυτοσωμικά. Οι γενετιστές χρησιμοποιούν συγκεκριμένα σύμβολα, για να συμβολίσουν την κληρονομικότητα χαρακτηριστικών σε ένα οικογενειακό ή γενεαλογικό δένδρο (Μέθοδοι 3.1). Αυτά τα σύμβολα φαίνονται στην Εικόνα 3.1.

Αυτοσωμική υπολειπόμενη κληρονομικότητα

Τα χαρακτηριστικά τα οποία περιγράφηκαν από τον Garrod παρουσίαζαν τις ιδιότητες υπολειπόμενης κληρονομικότητας όπως την περιέγραψε ο Mendel. Αυτά τα χαρακτηριστικά εκφράζονται μόνο σε άτομα που έχουν δύο μεταλλαγμένα αντίγραφα του γονιδίου (αλληλόμορφα) που έχουν κληρονομηθεί, ένα από κάθε γονέα (Εικόνα

ΚΛΙΝΙΚΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ 3.3

■ Φυλοσύνδετες στο X διαταραχές

Η Emma είναι ένα τρίχρονο κορίτσι που εισήχθη στην κλινική γενετικής εξαιτίας αναπτυξιακής καθυστέρησης. Γεννήθηκε μετά από μία φυσιολογική εγκυμοσύνη και τοκετό και φαινόταν μια χαρά ως βρέφος. Τα πρώτα κινητικά ορόσημα ήταν φυσιολογικά, περπάτησε και άρχισε να λέει τις πρώτες της λέξεις. Κατά το περασμένο έτος, παρ' όλα αυτά, φάνηκε να παρουσιάζει προβλήματα στην ανάπτυξη. Επικοινωνεί λιγότερο και δεν μιλάει πλέον. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι κάνει ασυνήθιστες επαναλαμβανόμενες περιστροφικές κινήσεις των χεριών. Δεν υπάρχει οικογενειακό ιστορικό με παρόμοια προβλήματα, αλλά η μητέρα της είχε μία αποβολή, πριν την Emma. Η φυσική εξέταση δεν έδειξε κάτι ιδιαίτερο εκτός από το ότι το μέγεθος της κεφαλής είναι στη 10η εκατοστιαία θέση ενώ σύμφωνα με τα παιδιατρικά της αρχεία φαίνεται ότι ένα χρόνο πριν ήταν στην 50η. Οι κινήσεις σφιξίματος των χεριών είναι εμφανείς. Τελικά, διαγνώστηκε σύνδρομο Rett.

Το σύνδρομο Rett (MIM 312750) είναι μία φυλοσύνδετη στο X διαταραχή που χαρακτηρίζεται από φυσιολογική πρώιμη ανάπτυξη, ακολουθούμενη από καθυστέρηση της ανάπτυξης. Το ψυχαναγκαστικό σφίξιμο των χεριών είναι τυπικό εύρημα, ενώ παρατηρείται βαθμιαία μείωση του ρυθμού ανάπτυξης της κεφαλής. Το σύνδρομο Rett προσβάλλει σχεδόν αποκλειστικά θηλυκά άτομα και παρουσιάζει συχνότητα 1:10.000 με 1:15.000 γεννήσεις κοριτσιών. Οφείλεται σε μετάλλαξη ενός γονιδίου του χρωμοσώματος X, που είναι θανατηφόρο για τα πάσχοντα αρσενικά άτομα. Αυτό μπορεί να οδηγήσει είτε σε ενδομήτριο θάνατο και αποβολή του εμβρύου, είτε σε πολύ σοβαρά νεογνικά νευρολογικά προβλήματα. Το γονίδιο που ευθύνεται για το σύνδρομο Rett, το MECP2 (MIM 300005), προσδένεται σε μεθυλιωμένες κυτοσίνες και συμμετέχει στη γονιδιακή σίωπηση μέσω μεθυλίωσης. Απώλεια της λειτουργίας του MeCP2 οδηγεί σε εκτεταμένη απορρύθμιση των γονιδίων, που αποτελεί τη βάση του νευρολογικού φαινοτύπου.



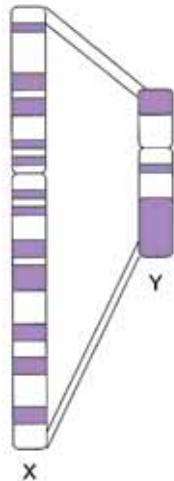
Κληρονομούνται γενετικά χαρακτηριστικά στο Y χρωμόσωμα;

υπάρχει μερική φαινοτυπική έκφραση του χαρακτηριστικού λόγω του ότι το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο εκφράζεται στο 50% των κυττάρων. Μερικές φορές υπάρχει μη τυχαία απενεργοποίηση του X, που σημαίνει ότι ένα χρωμόσωμα X είναι ενεργό σε περισσότερα από το 50% των κυττάρων. Αυτό μπορεί να συμβεί τυχαία, ή μπορεί να συμβεί, αν υπάρχει μία δομική ανωμαλία σε ένα X χρωμόσωμα η οποία οδηγεί σε θάνατο τα κύτταρα που εκφράζουν το συγκεκριμένο χρωμόσωμα, λόγω σοβαρής γενετικής ανισορροπίας. Αν η μη τυχαία απενεργοποίηση του X οδηγεί σε επικράτηση των κυττάρων που εκφράζουν ένα μεταλλαγμένο φυλοσύνδετο στο X γονίδιο, τότε το άτομο θα εκφράσει τον φαινότυπο. Ένας άλλος τρόπος που μπορεί ένα θηλυκό άτομο να εκφράσει τον φαινότυπο ενός φυλοσύνδετου στο X υπολειπόμενου χαρακτηριστικού είναι αν έχει ένα μόνο χρωμόσωμα X. Αυτό συμβαίνει στα φαινοτυπικά θηλυκά άτομα με σύνδρομο Turner, που έχουν μόνο 45 χρωμοσώματα, επειδή έχουν μόνο ένα φυλετικό χρωμόσωμα. Θα αναφερθούμε ξανά στο σύνδρομο Turner αργότερα στο βιβλίο αυτό.

Φυλοσύνδετη κληρονομικότητα στο χρωμόσωμα Y

Γενεαλογικά δένδρα που παρουσιάζουν φυλοσύνδετη στο X κληρονομικότητα εμφανίζουν μόνο μεταβίβαση χαρακτηριστικού από αρσενικό σε αρσενικό άτομο, με αρσενικά άτομα μόνο να νοσούν. Λίγες μόνο τέτοιες παθήσεις υπάρχουν. Μεταλλάξεις γονιδίων συνδεδεμένων με το Y εκδηλώνονται συνήθως ως ανδρική στειρότητα και επομένως δεν περνούν στις επόμενες γενιές. Αυτό αλλάζει, ωστόσο, με την έλευση των τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής που επιτρέπουν στα άτομα με φυλοσύνδετη στειρότητα να μεταβιβάσουν τις γενετικές τους διαφορές στις επόμενες γενιές.

Ιδιαίτερη σημασία παρουσιάζει η ψευδοαυτοσωματική περιοχή, η μικρή περιοχή ομολογίας στα άκρα του μικρού και του μακρού βραχίονα των X και των Y χρωμοσωμάτων (Xp και Yp) (Εικόνα 3.18). Πολύ λίγα γονίδια βρίσκονται σε αυτήν την περιοχή και τα γονίδια αυτά ξεφεύγουν από την απενεργοποίηση του X. Ένα από αυτά τα γονίδια είναι το SHOX (MIM 312865). Ετερόζυγες μεταλλάξεις του SHOX προκαλούν την δυσχονδροστέωση Leri-Weil (MIM 127300), μία σπάνια σκελετική δυσπλασία που περιλαμβάνει αμφίπλευρη κάμψη των αντιβραχίων με εξαρθρώσεις της ωλένης και του καρπού και γενικά μικρό ανάστημα. Ομόζυγες μεταλλάξεις προκαλούν τον πιο σοβαρό μεσομελικό νανισμό Langer (MIM 249700), που χαρακτηρίζεται από βράχυνση του αντιβράχιου και της κνήμης. Σημειώστε ότι και οι δύο αυτές διαταραχές έχουν αριθμούς MIM χαρακτηριστικούς επικρατών ή υπολειπόμενων και όχι φυλοσύνδετων χαρακτηριστικών. Αυτό συμβαίνει, διότι τα γονίδια βρίσκονται και στο X και στο Y χρωμόσωμα, και έτσι συμπεριφέρονται ως αυτοσωμικά χαρακτηριστικά.



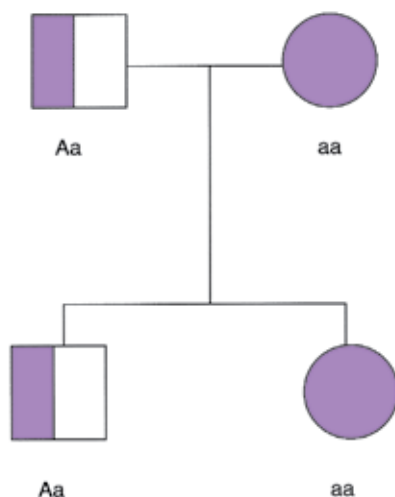
Εικόνα 3.18 • Οι ομόλογες περιοχές στον μικρό και στον μακρό βραχίονα του X και του Y χρωμοσώματος ονομάζονται ψευδοαυτοσωματικές περιοχές. Το X και Y ζευγαρώνουν στην περιοχή αυτή των μικρών βραχιόνων τους. Τα γονίδια στην ψευδοαυτοσωματική περιοχή του X δεν απενεργοποιούνται.

Ψευδοεπικρατής κληρονομικότητα

Η ψευδοεπικρατής κληρονομικότητα αναφέρεται στην παρατήρηση της φαινομενικής μεταβίβασης από γονέα σε παιδί ενός γνωστού αυτοσωμικού υπολειπόμενου χαρακτηριστικού (Εικόνα 3.19). Έχουμε ψευδοεπικρατούσα κληρονομηση, όταν μια πάθηση είναι κοινή και συμβατή με την αναπαραγωγή. Η κάθετη μεταβίβαση συμβαίνει όταν ο ένας γονέας είναι ομόζυγος και ο άλλος ετερόζυγος. Ένα παράδειγμα είναι η αιμοχρωμάτωση (MIM 235200), διαταραχή στην οποία υπάρχει υπερβολική απορρόφηση σιδήρου. Ο σίδηρος εναποτίθεται σε ιστούς, όπως η καρδιά, το ήπαρ και το πάγκρεας, όπου είναι τοξικός. Η αιμοχρωμάτωση είναι αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτηριστικό με συχνότητα φορέων ένα στα δέκα άτομα κελτικής καταγωγής. Σε αυτόν τον πληθυσμό δεν θα ήταν σπάνιο για ένα ομόζυγο άτομο να κάνει παιδιά με ένα ετερόζυγο άτομο.

Διγονιδιακή κληρονομικότητα

Η διγονιδιακή κληρονομικότητα αναγνωρίστηκε σχετικά πρόσφατα σαν μορφή γενετικής μεταβίβασης. Παρατηρήθηκε για πρώτη φορά σε οικογένειες, στις οποίες εμφανιζόταν μία διαταραχή του ματιού, η μελαγχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια (retinitis pigmentosa RP) (MIM 268000), σε παιδιά των οποίων οι γονείς έφεραν ο καθένας μια μετάλλαξη σε διαφορετικό γονίδιο σχετιζόμενο με τη μελαγχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια, το *ROM1* (MIM 180721) και το γονίδιο της περιφερίνης (*peripherin*) (MIM 170710) (Εικόνα 3.20). Και οι δύο γονείς είχαν φυσιολογική όραση, όπως θα περίμενε κανείς, καθώς το *ROM1* και το γονίδιο της περιφερίνης τυπικά προκαλούν μελαγχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια, μόνο όταν ένα άτομο είναι ομόζυγο για τα μεταλλαγμένα αλληλόμορφα. Απόγονοι που ήταν διπλοί ετεροζυγώτες, εν τούτοις, ανέπτυξαν μελαγχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια.



?
Τι εννοούμε με τον όρο ψευδοεπικράτηση;

?
Τι είναι η διγονιδιακή κληρονομικότητα;

Εικόνα 3.19 • Ψευδοεπικρατούσα κληρονομικότητα. Ένα ετερόζυγο αρσενικό άτομο και ένα ομόζυγο θηλυκό μεταβιβάζουν μία υπολειπόμενη διαταραχή στην κόρη τους, δίνοντας την εντύπωση επικρατούσας κληρονομής. Αυτό συμβαίνει πιο συχνά, όταν το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο είναι συχνό στον πληθυσμό.

ΚΛΙΝΙΚΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ 3.4

■ MELAS

Ο Ένας είναι 12 χρονών με σοβαρή αναπτυξιακή καθυστέρηση και επιληπτικές κρίσεις. Οι κρίσεις του ξεκίνησαν όταν ήταν περίπου 2 ετών και ήταν πολύ δύσκολο να ελεγχθούν με φαρμακευτική αγωγή. Παρ' όλο που τα πρώτα αναπτυξιακά στάδια ήταν φυσιολογικά, έχασε σταδιακά τις αναπτυξιακές του δεξιότητες και είχε ορισμένα ξαφνικά επεισόδια νευρολογικών ελλειμμάτων που διαγνώστηκαν ως εγκεφαλικά επεισόδια. Έχει ήπια διάχυτη μυϊκή αδυναμία, καθώς και μερική απώλεια χρήσης του δεξιού του βραχίονα και ποδιού μετά από ένα εγκεφαλικό επεισόδιο. Πρόσφατη εξέταση αίματος κατά τη διάρκεια ενός επεισοδίου όμοιου με εγκεφαλικό αποκάλυψε υψηλά επίπεδα γαλακτικού οξέος. Κανένας άλλος στην οικογένεια δεν έχει παρόμοια ασθένεια, αν και η αδερφή του είχε ορισμένα επεισόδια σπασμών και η μητέρα του έχει ιστορικό σοβαρών ημικρανιών. Τελικά, διαγνώστηκε η ασθένεια MELAS.

Τα αρχικά MELAS (MIM 540000) αποτελούν ακρωνύμια για το «mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes», δηλαδή μιτοχονδριακή εγκεφαλομυοπάθεια, γαλακτική οξείδωση και επεισόδια τύπου εγκεφαλικού. Η διαταραχή μπορεί να παρουσιαστεί σε οποιαδήποτε στιγμή της ζωής του ατόμου με προοδευτική νευρολογική επιδείνωση και σπασμούς. Υπάρχουν περιπτώσεις, με αιφνίδια εκδήλωση νευρολογικού ελλείμματος που ακολουθεί τη χρονική πορεία των εγκεφαλικών επεισοδίων. Ο μηχανισμός δεν είναι η τυπική αγγειακή απόφραξη που συναντάμε στα εγκεφαλικά, αν και η ακριβής φυσιοπαθολογία δεν είναι εντελώς γνωστή. Το γαλακτικό οξύ τείνει να συσσωρεύεται στο αίμα, ειδικά κατά τη διάρκεια επεισοδίων εγκεφαλικού τύπου. Το γαλακτικό οξύ είναι παραπροϊόν της αποτυχίας του αερόβιου μεταβολισμού στα μιτοχόνδρια. Ποικίλες μιτοχονδριακές μεταλλάξεις μπορεί να είναι υπεύθυνες για το σύνδρομο MELAS. Η πιο κοινή είναι η μετάλλαξη στο μιτοχονδριακό γονίδιο για το tRNA της λευκίνης (MIM 590050). Το σύνδρομο MELAS ακολουθεί μητρική μεταβίβαση, όπως αναμένεται για ένα μιτοχονδριακό χαρακτηριστικό, αλλά μπορεί να υπάρχει μεγάλη ποικιλομορφία στην έκφραση μέσα σε μία οικογένεια. Αυτό εξηγείται από την ετεροπλάσμια για την μιτοχονδριακή μετάλλαξη. Μερικά άτομα κληρονομούν μόνο ένα μικρό ποσοστό μεταλλαγμένων μιτοχονδρίων και προσβάλλονται πιο ήπια ή δεν έχουν καθόλου κλινικά συμπτώματα. Άλλοι κληρονομούν ένα μεγαλύτερο ποσοστό και προσβάλλονται πολύ πιο σοβαρά. Επιπρόσθετα, τα συγκεκριμένα συμπτώματα μπορεί να εξαρτώνται από την αναλογία μεταλλαγμένων και μη μεταλλαγμένων μιτοχονδρίων σε συγκεκριμένους ιστούς, όπως ο εγκέφαλος ή οι μύες.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.1 Τα κυριότερα σύνδρομα που σχετίζονται με μιτοχονδριακές μεταλλάξεις

Σύνδρομο	Κλινικά χαρακτηριστικά
Μιτοχονδριακές Σημειακές Μεταλλάξεις MERRF (MIM 545000) MELAS (MIM 540000)	Μυοκλωνική επιληψία, μυοπάθεια, άνοια Γαλακτική οξείδωση, επεισόδια τύπου εγκεφαλικού, μυοπάθεια, επιληπτικές κρίσεις, άνοια
Κληρονομική οπτική νευροπάθεια Leber (MIM 535000) NARP (MIM 551500) Διαβήτης/ κώφωση (MIM 520000) Κώφωση σχετιζόμενη με αμινογλυκοσίδες (MIM 580000) Σύνδρομο Leigh (MIM 256000)	Τύφλωση, βλάβες καρδιακής αγωγιμότητας Νευροπάθεια, αταξία, μελαγχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια Σακχαρώδης διαβήτης, κώφωση Νευροαισθητήρια κώφωση μετά από έκθεση σε αμινογλυκοσίδες Διαταραχή στην κίνηση, αναπνευστική δυσκίνησια, παλινδρόμηση
Ελλείψεις / Διπλάσιασμοί Kearns – Sayre (MIM 530000)	Εξωτερική οφθαλμοπληγία, μελαγχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια, καρδιακός αποκλεισμός, αταξία, αυξημένη πρωτεΐνη εγκεφαλονωτιαίου υγρού
Πυρηνικές Μεταλλάξεις MNGIE (MIM 603041) Θανατηφόρα παιδική νευροπάθεια (MIM 251880)	Μυοπάθεια, νευροπάθεια, γαστρεντερική διαταραχή Ελάττωση μιτοχονδριακού DNA

Πηγή: Shankske, AL, Shanke, S, DiMauro, S. The other human genome. Arch Pediatr Adolesc Med 2001;155:1210-1216.

Παρ' όλο που όλα τα παιδιά μίας γυναίκας με μία μιτοχονδριακή μετάλλαξη αναμένεται να κληρονομήσουν τη μετάλλαξη, υπάρχει συνήθως ένα μεγάλο εύρος ποικιλομορφίας στην έκφραση. Αυτό οφείλεται στο φαινόμενο της ετεροπλάσμιας. Αντίθετα με το πυρηνικό γονιδίωμα, το οποίο αντιπροσωπεύεται από ένα μόνο αντίγραφο σε κάθε κύτταρο, υπάρχουν εκατοντάδες μόρια μιτοχονδριακού DNA σε κάθε κύτταρο. Αυτά τα μιτοχόνδρια διαχωρίζονται παθητικά, όταν ένα κύτταρο διαιρείται, σε αντίθεση με τον κανονικό διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων στο πυρηνικό γονιδίωμα κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης. Αν ορισμένα από τα μιτοχόνδρια περιέχουν μία μετάλλαξη και κάποια άλλα όχι, το αποτέλεσμα μπορεί να είναι άνιση κατανομή μεταλλαγμένων και μη μεταλλαγμένων μιτοχονδρίων στα θυγατρικά κύτταρα (Εικόνα 3.31). Κατά τη διάρκεια παραγωγής ωοκυττάρων αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα διαφορετικά ωοκύτταρα να λαμβάνουν διαφορετικούς αριθμούς μεταλλαγμένων και μη μεταλλαγμένων μορίων μιτοχονδριακού DNA, που μεταφράζεται σε απογόνους που κληρονομούν τη μετάλλαξη σε διάφορους βαθμούς. Στα σωματικά κύτταρα αυτό έχει ως αποτέλεσμα σε ορισμένους ιστούς να υπάρχει υπεροχή των

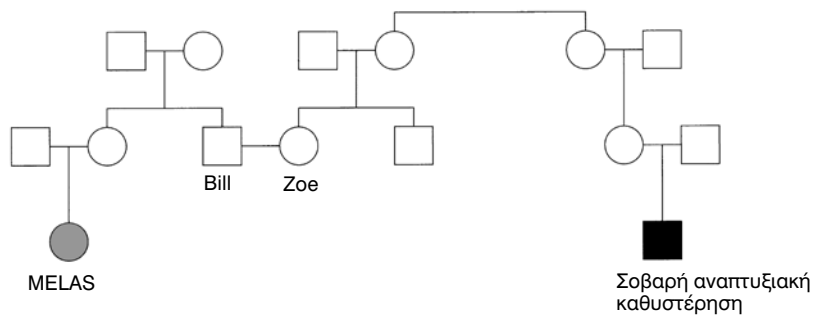
μεταλλαγμένων έναντι των μη μεταλλαγμένων μορίων DNA και, κατά συνέπεια, να παρουσιάζονται ιστοειδικές επιδράσεις της μιτοχονδριακής μετάλλαξης.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

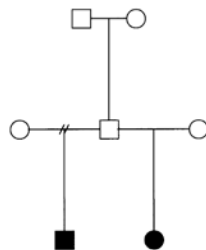
Έχει περάσει πολύς καιρός από την εποχή των Mendel και Garrod και σήμερα έχουμε κατανοήσει τη μονογονιδιακή κληρονομικότητα σε μοριακό επίπεδο. Όλες αυτές οι γνώσεις μας βοηθούν να συνειδητοποιήσουμε την πολυπλοκότητα των γενετικών συστημάτων. Δεν υπάρχουν στην πραγματικότητα μονογονιδιακές διαταραχές – κανένα γονίδιο δεν δρα μόνο του, ώστε να καθορίσει έναν φαινότυπο, χωρίς να αλληλεπιδρά με άλλα γονίδια και με το περιβάλλον. Θα μελετήσουμε τα πολυπαραγοντικά χαρακτηριστικά αργότερα σε αυτό το βιβλίο που παραδοσιακά μελετώνται χωριστά από τα μονογονιδιακά χαρακτηριστικά. Αυτή η διάκριση αρχίζει να μην ισχύει, εν τούτοις. Όλα τα χαρακτηριστικά είναι σύνθετα χαρακτηριστικών. Ορισμένα σχετίζονται με τη δράση ενός ή λίγων γονιδίων με σημαντική δράση ενώ σε άλλα συμμετέχουν πολλά γονίδια. Η κατανόηση της λειτουργίας αυτών των βιολογικών δικτύων παραμένει μία από τις προκλήσεις στην έρευνα της γενετικής και είναι πιθανόν να μεταφραστεί σε μεγαλύτερη πρόοδο στη διάγνωση και τη θεραπεία.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΕΠΑΝΑΛΗΨΗΣ

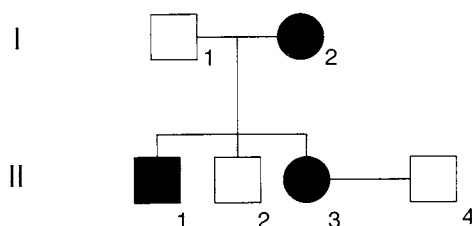
3.1 Παίρνετε ένα οικογενειακό ιστορικό και έχετε το παρακάτω γενεαλογικό δένδρο (Εικόνα 3.1). Πώς θα συμβουλευάτε τα άτομα αυτά δεδομένων των πληροφοριών που έχετε;



3.2 Ποιος είναι ο πιο πιθανός τρόπος κληρονομής που αντιπροσωπεύεται στο παρακάτω γενεαλογικό δένδρο (Εικόνα 3.2);



3.3 Τα άτομα II-3 και II-4 θέλουν να γνωρίζουν τον κίνδυνο να αποκτήσουν ένα παιδί με μια αυτοσωμική επικρατή διαταραχή η οποία έχει εκδηλωθεί στα άτομα I-2, II-1 και II-3 (δες Εικόνα 3.30). Η διεισδυτικότητα της διαταραχής είναι 75%.



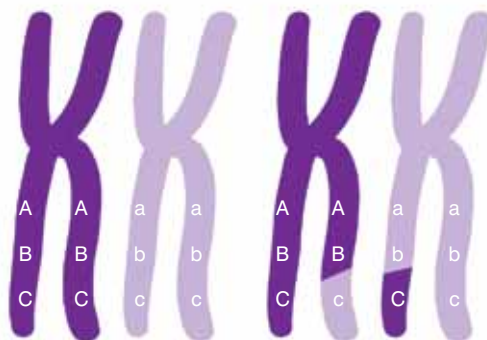


Πώς γίνεται η ανάλυση γενετικής σύνδεσης στον άνθρωπο;

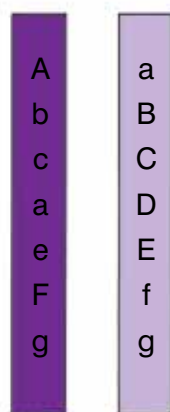
Ανάλυση γενετικής σύνδεσης

Η συχνότητα του ανασυνδυασμού ανάμεσα σε ένα ζεύγος γονιδίων είναι συνάρτηση της απόστασης. Πιο συγκεκριμένα, όσο πιο μακριά βρίσκονται, τόσο πιο συχνά συμβαίνει ανασυνδυασμός ανάμεσά τους. Αν δύο γονίδια βρίσκονται πολύ κοντά μεταξύ τους, ο ανασυνδυασμός ανάμεσά τους είναι πολύ σπάνιο να συμβεί. Ένα συγκεκριμένο σετ αλληλόμορφων που βρίσκονται κοντά πάνω στο ίδιο αντίγραφο χρωμοσώματος αποτελεί τον **απλότυπο** (Εικόνα 4.8). Για εξαιρετικά στενά συνδεδεμένα γονίδια, αλληλόμορφα που που συμμετέχουν στον απλότυπο, τείνουν να παραμένουν έτσι από γενιά σε γενιά (Εικόνα 4.9). Μόνο σε σπάνιες περιπτώσεις θα δημιουργηθούν νέοι συνδυασμοί με επιχiasμό.

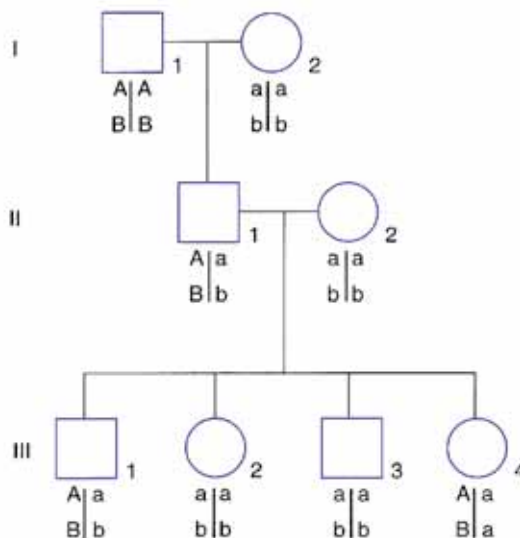
Εικόνα 4.7 • Επιχιασμός κατά τη διάρκεια του μειωτικού ζευγαρώματος των ομόλογων χρωμοσωμάτων. Παρ' όλο που οι σχετικές θέσεις των γονιδίων A, B και C δεν αλλάζουν, τα συγκεκριμένα σετ αλληλόμορφων πάνω στα δύο χρωμοσώματα αλλάζουν. Αρχικά, τα αλληλόμορφα A, B και C ήταν στο ένα από τα δύο χρωμοσώματα και τα a, b και c στο άλλο. Μετά από τον ανασυνδυασμό τα A και B είναι μαζί με το c, και τα a και b μαζί με το C στη μία από τις δύο χρωματίδες των ανασυνδυασμένων χρωμοσωμάτων.



Εικόνα 4.8 • Δύο απλότυποι για τους γενετικούς τόπους A-G. Ο καθένας αποτελείται από ένα συγκεκριμένο σετ αλληλόμορφων, τα οποία βρίσκονται το ένα δίπλα στο άλλο στο ένα αντίγραφο ενός συγκεκριμένου χρωμοσώματος.



Εικόνα 4.9 • Πλήρης σύνδεση μεταξύ ενός ζεύγους γενετικών τόπων, χωρίς ανασυνδυασμό ανάμεσά τους. Το άτομο II-1 είναι ετερόζυγο για τους δύο γενετικούς τόπους. Η σύζυγός του είναι διπλά ομόζυγη. Κάθε απόγονος στη γενιά III παίρνει τα a και b από τη μητέρα και είτε AB ή ab από τον πατέρα. Κανένας απόγονος δεν παίρνει ανασυνδυασμένο Ab ή aB από τον πατέρα.

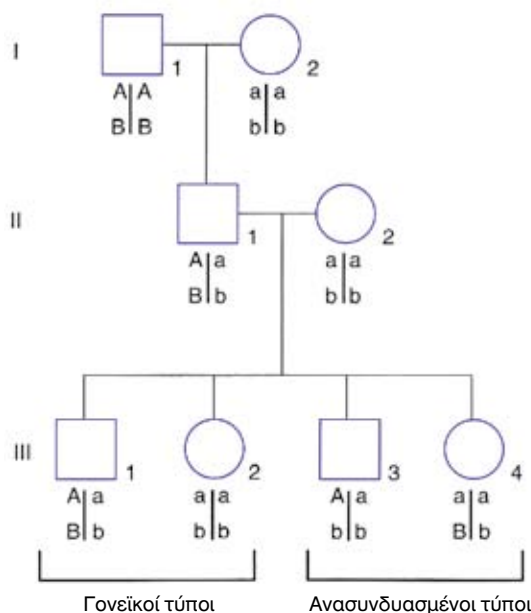


Η αντίθετη κατάσταση φαίνεται εδώ σε περιπτώσεις γονιδίων, τα οποία βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα. Σε αυτήν την περίπτωση, τα αλληλόμορφα διαχωρίζονται τυχαία στους γαμέτες. Για ένα μη συνδεδεμένο ζεύγος γενετικών τόπων υπάρχει 50% πιθανότητα να βρεθεί ο γονικός συνδυασμός των αλληλόμορφων σε έναν απόγονο και 50% πιθανότητα να συμβεί ένας μη γονικός συνδυασμός. 50% **γενετικά ανασυνδυασμένοι** και **μη ανασυνδυασμένοι** γονότυποι είναι το αποτέλεσμα του τυχαίου διαχωρισμού (Εικόνα 4.10).

Υποθέστε ότι δύο γονίδια βρίσκονται σε τέτοια απόσταση μεταξύ τους ώστε να συμβαίνει ανασυνδυασμός ανάμεσά τους στο 10% των περιπτώσεων. Κατά μέσο όρο, λοιπόν, το 10% των γαμετικών κυττάρων θα είναι ανασυνδυασμένο και το 90% μη ανασυνδυασμένο. Αυτή η πρόβλεψη θα πραγματοποιούνταν εάν εξετάζοταν ένας πολύ μεγάλος αριθμός απογόνων. Σε ένα ιδανικό πείραμα ζευγαρώματος ένα άτομο διπλά ετερόζυγο ζευγαρώνει με ένα ομόζυγο άτομο και παίρνουμε έναν πολύ μεγάλο αριθμό απογόνων. Τέτοιου είδους πειράματα γίνονται συχνά με μύγες *Drosophila* ή ποντικούς, αλλά δεν είναι ωφέλιμα για τη χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος.

Για να προσπεράσουμε αυτήν τη δυσκολία, μία στατιστική προσέγγιση έχει αναπτυχθεί για να πάρουμε πληροφορίες σχετικά με τη γενετική σύνδεση γονιδίων από μικρότερες οικογένειες (με μικρό αριθμό απογόνων). Αυτό που υπολογίζεται είναι η σχετική πιθανότητα να ληφθεί ένα ορισμένο σύνολο οικογενειακών πληροφοριών εάν ένα ζεύγος γονιδίων είναι συνδεδεμένο αντί να διαχωρίζεται τυχαία. Για μία οικογένεια με τέσσερα παιδιά η πιθανότητα για κάθε συνδυασμό ανασυνδυασμένων και μη ανασυνδυασμένων γονοτύπων δεδομένου ότι δεν υπάρχει σύνδεση (δηλαδή το αποτέλεσμα του τυχαίου διαχωρισμού) είναι: $(1/2) \cdot (1/2) \cdot (1/2) \cdot (1/2) = 1/16$. (Να σημειωθεί ότι η σειρά γέννησης των τεσσάρων παιδιών δεν λαμβάνεται υπ' όψιν, αφού αυτός ο παράγοντας θα είναι ο αριθμητής και ο παρονομαστής της αναλογίας των πιθανοτήτων.) Η πιθανότητα να δούμε οποιονδήποτε συνδυασμό ανασυνδυασμένων και μη ανασυνδυασμένων γονοτύπων, αν τα γονίδια είναι συνδεδεμένα, εξαρτάται από το πόσο κοντά βρίσκονται. Για παράδειγμα, αν το ποσοστό ανασυνδυασμού ανάμεσα σε ένα ζεύγος γονιδίων είναι 10%, τότε η πιθανότητα ενός ανασυνδυασμένου ατόμου είναι 0,1 και ενός μη ανασυνδυασμένου 0,9. Σε μία οικογένεια τεσσάρων ατόμων (Εικόνα 4.11), η πιθανότητα να δούμε έναν ανασυνδυασμένο και τρεις μη ανασυνδυασμένους απογόνους, αν η συχνότητα ανασυνδυασμού είναι 10%, είναι $(0,1) \cdot (0,9)^3 \cdot (0,9) = 0,0729$.

Σε αυτήν την οικογένεια των τεσσάρων με ένα ανασυνδυασμένο και τρεις μη ανασυνδυασμένους συνδυασμούς αλληλόμορφων, τι είναι πιο πιθανό; Γενετική σύνδεση με συχνότητα ανασυνδυασμού 10% ή μη σύνδεση; Μπορούμε να συγκρίνουμε τη σχετική πιθανότητα αυτών των δύο αυτών δυνατοτήτων υπολογίζοντας έναν λόγο πιθανοτήτων. Σε αυτήν την περίπτωση: $0,0729/0,0625 = 1,167$. Η σύνδεση είναι ελαφρώς πιο πιθανή από τη μη σύνδεση. Το ίδιο μπορεί να συμβεί για άλλες τιμές συχνότητας του ανασυνδυασμού ανάμεσα σε δύο γονίδια. Η συχνότητα ανασυνδυασμού συνήθως εκφράζεται ως μία μεταβλητή θ , το κλάσμα ανασυνδυασμού. Όταν $\theta=0$, η πιθανότητα σύνδεσης θα είναι μηδενική εάν εμφανιστεί έστω και ένα



Εικόνα 4.10 • Τυχαίος διαχωρισμός αλληλόμορφων σε δύο μη συνδεδεμένους γενετικούς τόπους. Το άτομο II-1 είναι διπλά ετερόζυγο και παράγει τέσσερις τύπους σπερματοζωαρίων: AB, Ab, Ba και ab. Καθένας από τους τέσσερις αυτούς συνδυασμούς παρουσιάζεται σε καθέναν από τους απογόνους, με αποτέλεσμα να προκύπτουν ίσοι αριθμοί γονεϊκών (μη ανασυνδυασμένων) και ανασυνδυασμένων απογόνων.

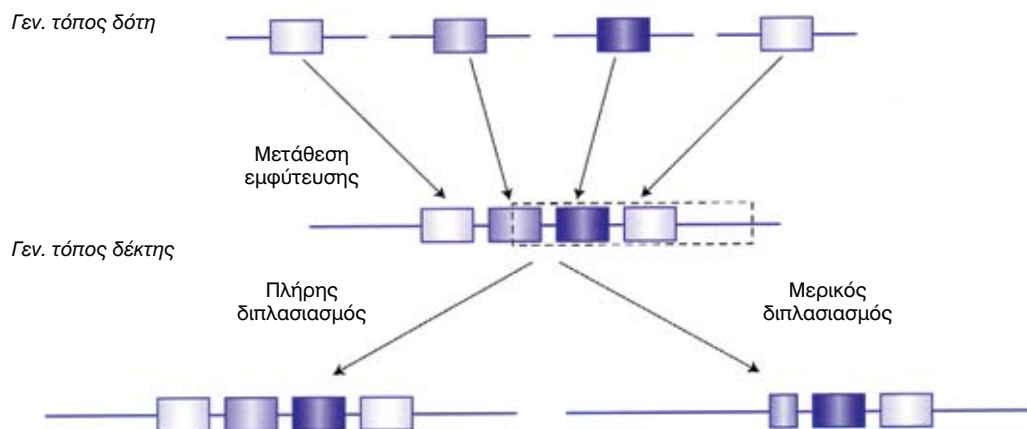
ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝ ΘΕΜΑ 4.1 ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΜΗΜΑΤΩΝ

Η ανάλυση της αλληλουχίας του γονιδιώματος του ανθρώπου αποκάλυψε ότι πάνω από το 5% του γονιδιώματος αποτελείται από περιοχές που αναφέρονται σαν διπλασιασμός τμημάτων. Ένας διπλασιασμός ορίζεται ως μία ομάδα αλληλουχιών μεγέθους τουλάχιστον 1 kb με 90% ή μεγαλύτερη ομολογία. Ορισμένα τμήματα ωστόσο μπορούν να ξεπεράσουν τις 200 kb. Οι διπλασιασμοί τμημάτων παίζουν σημαντικό ρόλο στην δημιουργία χρωμοσωμικών ανακατατάξεων που είναι πολύ σημαντική για την εξέλιξη, γιατί είναι υπεύθυνη για τις χρωμοσωμικές αλλαγές που οδηγούν στην ειδογένεση, αλλά εξίσου σημαντική και στην ιατρική, όπου οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες οδηγούν σε συγγενείς ανωμαλίες και στον καρκίνο.

Οι διπλασιασμοί τμημάτων δεν κατανέμονται ομαλά ούτε κατά μήκος του ίδιου χρωμοσώματος αλλά ούτε ανάμεσα σε διαφορετικά χρωμοσώματα. Ορισμένα χρωμοσώματα είναι ιδιαίτερα πλούσια σε διπλασιασμούς τμημάτων. Για παράδειγμα, το 25% του χρωμοσώματος Υ αποτελείται από διπλασιασμούς τμημάτων. Οι διπλασιασμοί τμημάτων εντοπίζονται σε δυσανάλογα μεγάλο ποσοστό κοντά στα κεντρομερίδια και τα τελομερίδια. Δεν είναι ξεκάθαρο πώς προέκυψαν οι διπλασιασμοί τμημάτων. Πιστεύεται ότι μερικοί ξεκίνησαν με την εισαγωγή μίας ομάδας αλληλουχιών σε μία χρωμοσωμική περιοχή (Εικόνα 4.24), ακολουθούμενη από άνισο επιχiasμό που διπλασίασαν κομμάτια DNA.

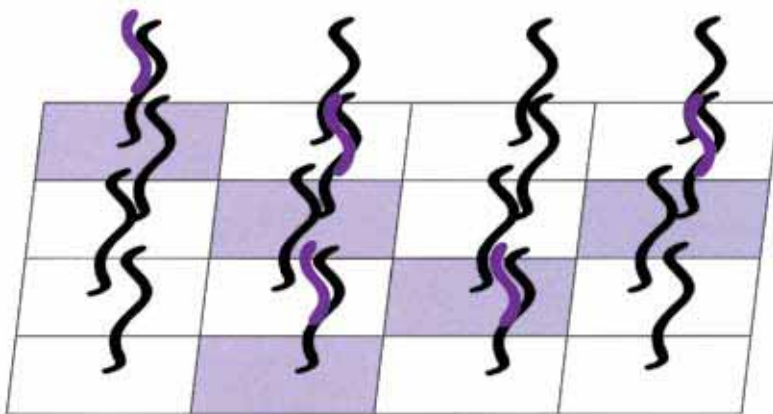
Έχουμε ήδη δει στο Κεφάλαιο 2 ότι άνισος επιχiasμός ανάμεσα σε επαναλαμβανόμενες μονάδες μπορεί να οδηγήσει σε έλλειμμα ή διπλασιασμό των χρωμοσωμικών τμημάτων. Αυτός ο μηχανισμός είναι υπεύθυνος για πολλά σύνδρομα, των οποίων η αιτία είναι κάποια έλλειμμα ή κάποιος διπλασιασμός, όπως για παράδειγμα η νευροπάθεια Charcot-Marie-Tooth (MIM 118200), το υπερωικοκαρδιοπροσωπικό σύνδρομο, το σύνδρομο Williams-Beuren (MIM 194050) και πολλά άλλα. Κατά την εξέλιξη, ανασυνδυασμοί που εμπιριέχουν διπλασιασμούς τμημάτων θεωρούνται ότι έχουν οδηγήσει σε αναστροφές και άλλες ανακατατάξεις που αποτελούν τη βάση της ειδογένεσης. Για παράδειγμα, 18 από τα 23 ανθρώπινα χρωμοσώματα είναι σχεδόν όμοια με των πρωτευόντων και η μεγαλύτερη διαφορά συνίσταται σε περικεντρικές αναστροφές ανάμεσα στα υπόλοιπα χρωμοσώματα. Διπλασιασμοί τμημάτων μπορεί επίσης να συμμετέχουν στη δημιουργία νέων γονιδίων. Γονίδια σε διπλασιασμένο τμήμα μπορεί να υπόκεινται σε μικρότερη επιλεκτική πίεση, από τη στιγμή που αντιπροσωπεύουν ένα «εφεδρικό αντίγραφο». Υπάρχουν πολλά παραδείγματα διπλασιασμένων γονιδιακών σετ στο ανθρώπινο γονιδίωμα. Μια από αυτές είναι ο γενετικός τόπος των σφαιρινών (Κεφάλαιο 13) και τα γονίδια των οφινών που εμπλέκονται στην έγχρωμη όραση.

Πρόσφατα έγινε εμφανές ότι υπάρχει ένας βαθμός πολυμορφισμού στον αριθμό των μονάδων επανάληψης ορισμένων μεγάλων διπλασιασμένων τμημάτων. Αυτό είναι γνωστό ως ποικιλομορφία μεγάλης κλίμακας. Μένει να διαπιστωθεί εάν αυτές οι παραλλαγές έχουν λειτουργικές επιπτώσεις, για παράδειγμα να εξυπηρετούν ως παράγοντες κινδύνου στην εμφάνιση κοινών διαταραχών.



Εικόνα 4.24 • Προτεινόμενος μηχανισμός της δημιουργίας του διπλασιασμού τμημάτων. Τμήματα DNA αντιγράφονται μέσα σε μία χρωμοσωμική περιοχή του («γενετικός τόπος δέκτης»). Ο διπλασιασμός όλου ή ενός τμήματος αυτής της περιοχής οδηγεί στη γένεση πολλαπλών αντιγράφων ολόκληρου του τμήματος. Διασκευασμένη κατόπιν αδείας, από Macmillan Publishers Ltd: Samonte RV, Eichler EE. Segmental duplications and evolution of the primate genome. Nature Reviews Genetics 2002;3:65-72.

ομόλογων αλληλουχιών σε ένα εξεταζόμενο δείγμα (Μέθοδοι 4.3). Αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ταχεία ανίχνευση παραλλαγών αλληλουχίας σε έναν μεγάλο αριθμό δειγμάτων ή να χαρακτηρίσει το σύνολο των γονιδίων που μεταγράφονται σε ένα ορισμένο δείγμα ιστού. Ο όρος «φυσιολογικά γονιδιώματα» έχει υιοθετηθεί για να συσχετίσει τις αλλαγές στο πρότυπο έκφρασης των γονιδίων ή συγκεκριμένων ομάδων γενετικών παραλλαγών σε συγκεκριμένες φυσιολογικές καταστάσεις υγείας ή ασθένειας. Ο όρος «χημικά γονιδιώματα» χαρακτηρίζει τις αλλαγές στη συμπεριφορά των γονιδίων ή των γονιδιακών προϊόντων, ως απάντηση στην έκθεση σε χημικούς παράγοντες και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διερεύνηση των φυσιολογικών απαντήσεων ή για την αναζήτηση πιθανών νέων φαρμάκων.



Εικόνα 4.25 • Ανάλυση γονιδιωματικού DNA με γονιδιακές μικροσυστοιχίες. Κάθε κύτταρο του πλέγματος περιέχει μονόκλιωνα ολιγονουκλεοτίδια με συγκεκριμένη αλληλουχία DNA. Η αλληλουχία ελέγχου θα υβριδοποιηθεί μόνο με συμπληρωματικές αλληλουχίες κυττάρων. Ο γενότυπος της αλληλουχίας ελέγχου φαίνεται από τα κύτταρα που υβριδοποιούνται.

Μέθοδοι 4.3

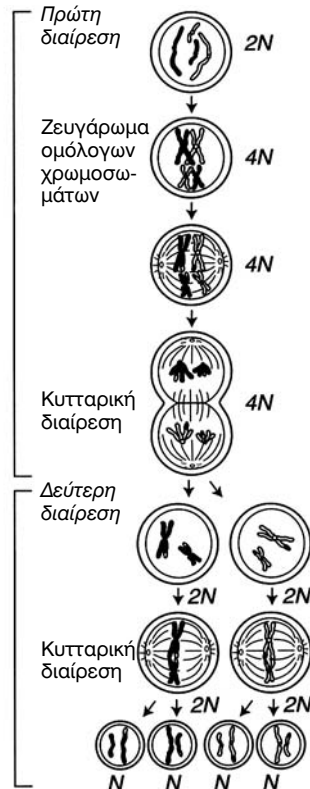
Γονιδιακές μικροσυστοιχίες (chip)

Παραδοσιακά, οι γενετικές μελέτες εστιάζουν σε ένα γονίδιο κάθε φορά, αλλά τώρα έχουμε εργαλεία στα χέρια μας που επιτρέπουν μελέτες ευρύτερης κλίμακας για τη δομή και τη λειτουργία μεγάλων ομάδων γονιδίων ταυτόχρονα. Μία από τις τεχνολογίες-κλειδιά που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτήν την προσπάθεια είναι η γονιδιακή μικροσυστοιχία (γονιδιακό «τσιπ»). Η βασική αρχή της είναι ότι συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA, είτε τμήματα απομονωμένα από ένα κύτταρο ή συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια, μπορούν να καθλωθούν σε μία συγκεκριμένη θέση πάνω σε μια μικρή γυάλινη πλατφόρμα (τσιπ). Οι αλληλουχίες καθλώνονται χρησιμοποιώντας μία φωτοχημική αντίδραση και ένα αυτοματοποιημένο σύστημα, το οποίο μπορεί να παραγάγει συστοιχίες με εκατοντάδες χιλιάδες αλληλουχίες. Το DNA που βρίσκεται πάνω στη μικροσυστοιχία μπορεί να αντιστοιχεί σε αλληλουχίες του γονιδιώματος ή μπορεί να είναι ομόλογο με αλληλουχίες RNA και να χρησιμοποιείται για να ανιχνευτεί γονιδιακή έκφραση. Θα αναπτύξουμε αναλυτικότερα τις συστοιχίες γονιδιακής έκφρασης στο Κεφάλαιο 8. Ένα παράδειγμα ανάλυσης γονιδιωματικού DNA φαίνεται στην Εικόνα 4.25. Κάθε θέση της συστοιχίας περιέχει ένα ολιγονουκλεοτίδιο που αντιστοιχεί με ένα τμήμα του γονιδίου που μας ενδιαφέρει. Οι γειτονικές θέσεις περιέχουν την ίδια αλληλουχία με διαφορά σε μία βάση. Κάθε πιθανή αλλαγή βάσης σε οποιοδήποτε σημείο της αλληλουχίας μπορεί να δημιουργηθεί και να τοποθετηθεί σε μια θέση της συστοιχίας. Το δείγμα DNA το οποίο μελετάμε σημαίνεται, στη συνέχεια, με έναν φθορίζοντα δείκτη και υβριδοποιείται με το DNA της συστοιχίας. Το DNA θα υβριδοποιηθεί μόνο με τα ολιγονουκλεοτίδια στις θέσεις εκείνες που περιέχουν ακριβώς τις συμπληρωματικές βάσεις. Με ένα υπολογιστικό σύστημα θα ταυτοποιηθούν οι θέσεις με τα σήματα υβριδοποίησης, από τα οποία μπορούμε να συμπεράνουμε τον γονότυπο για το δείγμα DNA σε όλες τις αλληλουχίες για τις οποίες υπάρχουν ολιγονουκλεοτίδια. Αυτή η προσέγγιση επιτρέπει την ταυτόχρονη γονοτυπική ανάλυση χιλιάδων SNP σε ένα δείγμα.

Η **βιοπληροφορική** περιλαμβάνει τη χρήση υπολογιστών, για να κατηγοριοποιήσει και να αναλύσει μεγάλα σύνολα βιολογικών δεδομένων. Προσεγγίσεις της βιοπληροφορικής έχουν εφαρμοστεί στην αλληλούχηση του ανθρώπινου γονιδιώματος, για να βοηθήσουν στην ταυτοποίηση γονιδίων ή στοιχείων ελέγχου. Ένα εξαιρετικά πολύτιμο εργαλείο είναι η σύγκριση αλληλουχιών ανάμεσα σε διαφορετικά είδη. Μία μεγάλη προσπάθεια γίνεται, για να αλληλουχηθούν τα γονιδιώματα μίας μεγάλης ποικιλίας προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών οργανισμών. Εκτός από το ότι παρέχουν πληροφορίες για την εξέλιξη αυτών των ειδών, τέτοιου είδους συγκρίσεις βοηθούν να ταυτοποιήσουμε λειτουργικές περιοχές που έχουν συντηρηθεί κατά την εξέλιξη.

Η **βιολογία συστημάτων** κάνει μία ολοκληρωμένη προσέγγιση στη μελέτη πολύπλοκων βιολογικών φαινομένων. Γονίδια, γονιδιακά προϊόντα, πρωτεΐνες και μεταβολίτες δεν δρουν απομονωμένα, αλλά αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και δημιουργούν ένα ενιαίο δίκτυο. Η βιολογία συστημάτων είναι η προσπάθεια να κατανοήσουμε πώς αυτά τα δίκτυα είναι δομημένα και πώς οι μεταβολές ενός συστατικού του δικτύου επηρεάζουν ολόκληρο το σύστημα. Μεγάλο μέρος από την επιστημονική προσπάθεια του περασμένου αιώνα, συμπεριλαμβανομένης της αλληλούχησης του

Εικόνα 6.4 • Η διαδικασία της μείωσης. Τα ομόλογα χρωμοσώματα ζευγαρώνουν κατά την πρώτη μειωτική πρόφαση και διαχωρίζονται στην πρώτη διαίρεση. Οι χρωματίδες στη συνέχεια διαχωρίζονται κατά τη δεύτερη μειωτική διαίρεση για να σχηματιστούν τελικά τέσσερα απλοειδή γαμετικά κύτταρα.



αρσενικά άτομα, ολόκληρη η διαδικασία της μείωσης λαμβάνει χώρα σε διάστημα μερικών ημερών. Και στις δύο περιπτώσεις, η πρώτη μειωτική διαίρεση ολοκληρώνεται καθώς τα ομόλογα χρωμοσώματα διαχωρίζονται στον κάθε πόλο και προκύπτουν δύο θυγατρικά κύτταρα. Στην ωογένεση, ένα από τα θυγατρικά κύτταρα θα γίνει ωάριο, ενώ το άλλο είναι ένα μικρότερο κύτταρο, το οποίο ονομάζεται πρώτο πολικό σωματίο. Και στις δύο περιπτώσεις, παρ' όλα αυτά, τα θυγατρικά κύτταρα τώρα περιέχουν ένα μόνο αντίγραφο του κάθε χρωμοσώματος, παρ' όλο που κάθε χρωμόσωμα αποτελείται από δύο χρωματίδες. Τα κύτταρα στη συνέχεια περνούν από ένα δεύτερο γύρο διαίρεσης που μοιάζει με μίτωση, με τη διαφορά ότι δεν προηγείται αντιγραφή του DNA. Αυτό παράγει τέσσερα σπερματογόνια ή ένα ωοκύτταρο και ένα δεύτερο πολικό σωματίο, με το καθένα να έχει μία απλοειδή σειρά χρωμοσωμάτων. Η μείωση με αυτόν τον τρόπο έχει δύο βασικούς ρόλους. Πρώτον, μειώνει το σύνολο των χρωμοσωμάτων σε απλοειδή αριθμό, έτσι ώστε μετά τη γονιμοποίηση να αποκατασταθεί ο διπλοειδής αριθμός. Δεύτερον, επιτρέπει να γίνει γενετικός ανασυνδυασμός.

Τα διάφορα βήματα, τόσο της μίτωσης όσο και της μείωσης είναι, όπως ο κυτταρικός κύκλος, αυστηρά ρυθμιζόμενες διαδικασίες. Μία ομάδα κυκλινών και κυκλινω-εξαρτωμένων κινασών με συγκεκριμένη δραστηριότητα κατά την κυτταρική διαίρεση εμπλέκονται στο να κατευθύνουν τη στοίχιση των χρωμοσωμάτων στην άτρακτο και τον διαχωρισμό των αδελφών χρωματίδων. Τα ινίδια της άτρακτου αποτελούνται από μικροσωληνίσκους που αλληλεπιδρούν με μία δομή του κεντρομεριδίου που ονομάζεται **κινητοχώρος**. Πρωτεΐνες αλληλεπιδρούν με τους μικροσωληνίσκους, και λειτουργούν ως «μηχανές», προωθώντας τις αδελφές χρωματίδες (ή τα χρωμοσώματα, στην περίπτωση της μείωσης) προς τους πόλους της άτρακτου.

ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ

Ο ανθρώπινος **καρυότυπος** αποτελείται από 22 ζεύγη μη φυλετικών (**αυτοσωμικών**) χρωμοσωμάτων και από δύο **φυλετικά χρωμοσώματα**, ΧΧ για τα θηλυκά άτομα και ΧΥ για τα αρσενικά. Κάθε χρωμόσωμα αποτελείται από μία συνεχή αλυσίδα DNA, που περιλαμβάνει από μερικές εκατοντάδες μέχρι πολλές χιλιάδες γονίδια. Η μελέτη τόσο της φυσιολογικής όσο και της μη φυσιολογικής δομής των χρωμοσωμάτων έχει προσφέρει βασικά εργαλεία για την μελέτη αναπτυξιακών διαταραχών και του καρκίνου στον άνθρωπο.

Χρωμοσωμική δομή και ανάλυση

Τα χρωμοσώματα υπόκεινται σε έναν κύκλο συμπύκνωσης και αποσυμπύκνωσης κατά τον κυτταρικό κύκλο. Ξετυλίγονται στον μέγιστο βαθμό κατά τη μεσόφαση και εμφανίζουν τη μέγιστη δυνατή συμπύκνωση κατά τη μετάφαση της μίτωσης, ακριβώς πριν το διαχωρισμό των αδελφών χρωματίδων στα θυγατρικά κύτταρα. Μιλήσαμε για τη δομή της χρωματίνης στο Κεφάλαιο 1. Το μεταφασικό χρωμόσωμα αποτελείται από βρόχους χρωματίνης προσδεμένους σε ένα πρωτεϊνικό σκελετό (Εικόνα 6.5). Η συνολική συμπίκνωση είναι περίπου 10.000 έως 20.000 φορές μεγαλύτερη συγκριτικά με τη «γυμνή» δίκλωνη έλικα του DNA.

Τα χρωμοσώματα μπορούν να αναλυθούν κατά την κυτταρική διαίρεση, όταν βρίσκονται στη φάση που έχουν τη μέγιστη συμπύκνωσή τους ή κοντά σε αυτήν τη φάση. Η χρωμοσωμική ανάλυση γίνεται σε διαγνωστικά εργαστήρια γενετικής, όπου γίνεται ανίχνευση ανωμαλιών του αριθμού ή της δομής των χρωμοσωμάτων. Η ανάλυση πραγματοποιείται σε ταχέως διαιρούμενα κύτταρα, όπως είναι κύτταρα του μυελού των οστών ή καρκινικά κύτταρα ή σε κύτταρα που αναπτύσσονται σε καλλιέργειες (Μέθοδοι 6.1).

Μέθοδοι 6.1

Χρωμοσωμική ανάλυση

Η κύρια πηγή κυττάρων που χρησιμοποιείται στην κλινική κυτταρογενετική είναι Τ λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος, τα οποία διεγείρονται, ώστε να αρχίσουν να πολλαπλασιάζονται στην καλλιέργεια με τη χρήση της λεκτίνης φυτοαιμαγλουτινίνης. Τα κύτταρα συλλέγονται μετά από προσθήκη της ουσίας κολχικίνη, η οποία αναστέλλει τον σχηματισμό της ατράκτου. Έπειτα, με την προσθήκη υποτονικού αλατούχου διαλύματος, τα κύτταρα αυξάνουν σε όγκο λόγω ωσμωτικού φαινομένου, η μεμβράνη τους σπάει και τα χρωμοσώματα απλώνονται. Στη συνέχεια, μονιμοποιούνται πάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα και βάφονται με ειδικές χρωστικές (Εικόνα 6.6).

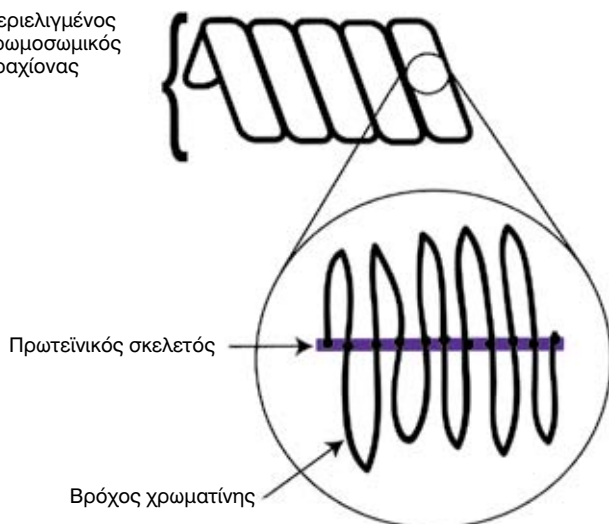
Η ανακάλυψη της επεξεργασίας με υποτονικό διάλυμα το 1956 έκανε δυνατή την ανάπτυξη της κλινικής κυτταρογενετικής. Πριν τα χρωμοσώματα φαίνονται σαν συμπαγή μάζα μέσα στον πυρήνα και δεν ήταν καθόλου εύκολο να διακριθεί το ένα από το άλλο. Τότε πίστευαν ότι ο φυσιολογικός αριθμός των χρωμοσωμάτων του ανθρώπου ήταν 48. Πολύ σύντομα, όμως, μετά την εισαγωγή της προσθήκης υπότονου διαλύματος, καθορίστηκε ο σωστός αριθμός των χρωμοσωμάτων σε 46. Επιπλέον, η χρήση καλλιιεργειών κυττάρων περιφερικού αίματος απλούστευσε πολύ τη διαδικασία της συλλογής των διαιρούμενων κυττάρων για ανάλυση. Το 1959 περιγράφηκε η πρώτη ανθρώπινη χρωμοσωμική ανωμαλία, η τρισωμία 21, που είναι υπεύθυνη για το σύνδρομο Down.

Ένας αριθμός ειδικών τεχνικών χρώσης χρησιμοποιούνται για την αποκάλυψη της λεπτής δομής των χρωμοσωμάτων. Η φθορίζουσα χρωστική **κιν ακρίνη** παράγει ένα πρότυπο φωτεινών και σκοτεινών ζωνών που βοηθά στην ταυτοποίηση των χρωμοσωμάτων (Εικόνα 6.7). Οι ίδιες ζώνες φαίνονται και μετά από κατεργασία των χρωμοσωμάτων (συνήθως με το ένζυμο θρυψίνη) χρώση με Giemsa (Εικόνα 6.8). Με την τεχνική αυτή αποφεύγεται η ανάγκη για μικροσκόπιο φθορισμού.



Ποια είναι τα κύρια δομικά χαρακτηριστικά των χρωμοσωμάτων;

Περιελιγμένος
χρωμοσωμικός
βραχίονας



Εικόνα 6.5 • Βρόχοι χρωματίνης προσδένονται σε ένα πρωτεϊνικό ικρίωμα, για να δημιουργήσουν το εξαιρετικά συμπυκνωμένο μιτωτικό χρωμόσωμα.