

Το κύτταρο ως μονάδα υγείας και νόσου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

Το γονιδίωμα 1

Μη-κωδικοποιούν DNA 1

Οργάνωση της δομής των ιστών 3

Μικρο-RNA και μεγάλο μη-κωδικοποιούν RNA 4

Βασική κυτταρική λειτουργία 6

Κυτταρική μεμβράνη: Προστασία και απόκτηση θρεπτικών συστατικών 8

Κυτταροσκελετός 11

Αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυττάρων 13

Μηχανικός εξοπλισμός βιοσύνθεσης:

Ενδοπλασματικό δίκτυο και συσκευή Golgi 14

Απομάκρυνση αποβλήτων: Λυσοσώματα και πρωτεασώματα 15

Κυτταρικός μεταβολισμός και λειτουργία των μιτοχονδρίων 17

Ενεργοποίηση κυττάρου 18

Κυτταρική σηματοδότηση 18

Οδοί μεταγωγής σήματος 19

Βασικές πρωτεΐνες σηματοδότησης, κέντρα και κόμβοι 21

Μεταγραφικοί παράγοντες 22

Αυξητικοί παράγοντες και υποδοχείς 22

Εξωκυττάρια θεμέλια ουσία 24

Συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας 26

Διατήρηση κυτταρικών πληθυσμών 29

Κυτταρικός πολλαπλασιασμός και κυτταρικός κύκλος 29

Αρχέγονα κύτταρα 31

Τελικές παρατηρήσεις 33

Ο όρος *παθολογική ανατομική* αναφέρεται στην ειδικότητα της ιατρικής που μελετά τη νόσο. Ο Virchow ισχυριζόταν, και πολύ σωστά, ότι η νόσος ξεκινά στο κυτταρικό επίπεδο, ωστόσο, σήμερα διαπιστώνουμε ότι οι κυτταρικές διαταραχές προέρχονται από μεταβολές σε μόρια (γονίδια, πρωτεΐνες και άλλα στοιχεία), οι οποίες επηρεάζουν την επιβίωση και τη βιολογική συμπεριφορά των κυττάρων. Έτσι, η βάση της σύγχρονης παθολογικής ανατομικής είναι η κατανόηση των *κυτταρικών* και μοριακών ανωμαλιών στα πλαίσια της *φυσιολογικής* κυτταρικής δομής και λειτουργίας, θέμα που διαπραγματεύεται αυτό το εισαγωγικό κεφάλαιο.

Το να συμπυκνωθεί σε ένα και μόνο κεφάλαιο το τεράστιο και συναρπαστικό πεδίο της βιολογίας του κυττάρου δεν είναι ούτε ρεαλιστικό ούτε και επιθυμητό. Συνεπώς, αντί να επιχειρηθεί μια περιληπτική ανασκόπηση, ο στόχος αυτού του κεφαλαίου είναι να διερευνηθούν οι βασικές αρχές και να επισημανθούν τα κύρια σημεία των τελευταίων εξελίξεων όσον αφορά στους μηχανισμούς των νόσων, οι οποίες αναφέρονται σε αυτό το βιβλίο.

ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ

Η αλληλούχηση του ανθρώπινου γονιδιώματος στις αρχές του 21^{ου} αιώνα απέτελεσε ένα σημαντικό επίτευγμα της βιοϊατρικής επιστήμης. Έκτοτε, το ταχέως μειούμενο κόστος της αλληλούχησης και η ικανότητα των υπολογιστών να αναλύουν τεράστιο αριθμό δεδομένων, αποτελούν μια υποσχόμενη επαναστατική εξέλιξη στις γνώσεις μας, όσον αφορά στην υγεία και τη νόσο. Ταυτόχρονα, πολύ πιο πέρα

και από τη γραμμική αλληλούχηση του γονιδιώματος, οι πληροφορίες που ήλθαν στο φως, αποκάλυψαν, επίσης, ένα εκπληκτικό επίπεδο πολυπλοκότητας. Οι δυνατότητες των νέων αυτών ισχυρών εργαλείων να αυξήσουν την κατανόησή μας όσον αφορά στην παθογένεια της νόσου και να οδηγήσουν σε καινοτόμες θεραπευτικές προσεγγίσεις, διεγείρει και εμπνέει τόσο τους επιστήμονες όσο και το ευρύ κοινό.

Μη-κωδικοποιούν DNA

Το ανθρώπινο γονιδίωμα περιέχει περίπου 3,2 δισεκατομμύρια ζεύγη βάσεων DNA. Ακόμη, μέσα στο γονιδίωμα υπάρχουν, κατά προσέγγιση, 20.000 γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, συνιστώντας μόλις το 1,5% του γονιδιώματος. Οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από αυτά τα γονίδια αποτελούν θεμελιώδη συστατικά των κυττάρων, λειτουργώντας ως ένζυμα, δομικά στοιχεία και σηματοδοτικά μόρια. Αν και ο αριθμός 20.000 υποτιμά τον πραγματικό αριθμό των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται (πολλά γονίδια παράγουν πολυάριθμα μετάγραφα RNA, τα οποία κωδικοποιούν συγκεκριμένες ισομορφές πρωτεϊνών), εν τούτοις είναι εντυπωσιακό το γεγονός ότι τα σκουλήκια που αποτελούνται επίσης από λιγότερο από 1000 κύτταρα - και με 30 φορές λιγότερο γονιδίωμα - απαρτίζονται, επίσης, από 20.000 γονίδια, κατά προσέγγιση, που κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Ίσως ακόμη πιο ανησυχητικό είναι το γεγονός ότι, πολλές από αυτές τις πρωτεΐνες είναι αναγνωρίσιμα ομόλογα μορίων που εκφράζονται στον άνθρωπο. Τι διαχωρίζει λοιπόν τους ανθρώπους από τα σκουλήκια;

Η απάντηση δεν είναι εντελώς γνωστή, αλλά υπάρχουν

ενδείξεις που υποστηρίζουν τον ισχυρισμό ότι η διαφορά έγκειται στο 98,5% του ανθρώπινου γονιδιώματος, το οποίο δεν κωδικοποιεί πρωτεΐνες. Η λειτουργία αυτών των μεγάλων έκτασης DNA (που αποκαλούνται “σκοτεινή ύλη” του γονιδιώματος) αποτελούσε μυστήριο για πολλά χρόνια. Ωστόσο, σήμερα πλέον είναι σαφές ότι, τελικώς, μεταγράφεται πάνω από το 85% του ανθρώπινου γονιδιώματος, με το σχεδόν 80% αυτής της μεταγραφής να αφορά στη ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων. Ως εκ τούτου, εκεί όπου οι πρωτεΐνες παρέχουν τα δομικά υλικά και το μηχανικό εξοπλισμό, που είναι απαραίτητα για τη συγκρότηση κυττάρων, ιστών και οργάνων, εκείνες που παρέχουν το κριτικής σημασίας “αρχιτεκτονικό σχεδιασμό” είναι οι μη-κωδικοποιούσες περιοχές του γονιδιώματος.

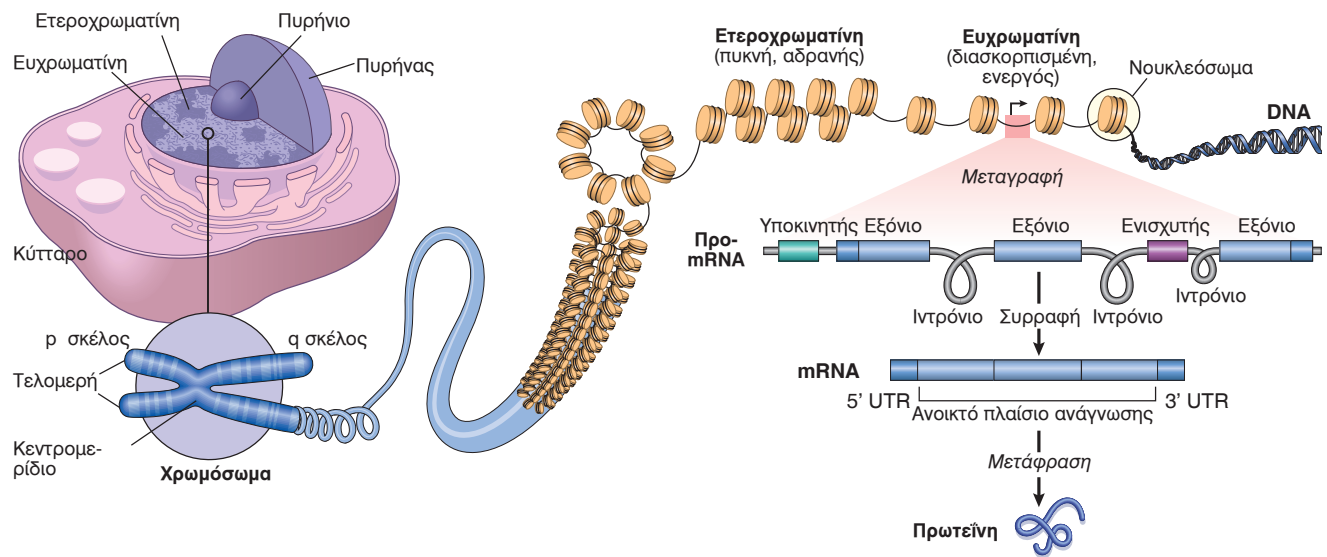
Οι μείζονες κατηγορίες των λειτουργικών *αλληλουχιών των μη-κωδικοποιούντων-πρωτεΐνες DNA*, που ανευρίσκονται στο ανθρώπινο γονιδίωμα, περιλαμβάνουν (Εικ. 1.1):

- Περιοχές *υποκινητών* και *ενισχυτών* που δεσμεύουν μεταγραφικούς παράγοντες πρωτεϊνών
- Θέσεις δέσμευσης πρωτεϊνών, οι οποίες οργανώνουν και συντηρούν υψηλότερης τάξης *δομές χρωματίνης*
- *Μη-κωδικοποιούντα ρυθμιστικά RNA*. Η συντριπτική πλειονότητα του 80% του γονιδιώματος, που επιδίδεται αποκλειστικά σε ρυθμιστικές λειτουργίες, μεταγράφεται σε RNA - μικρο-RNA και μεγάλα μη-κωδικοποιούντα RNA (περιγράφεται παρακάτω) – τα

οποία ποτέ δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνη, αλλά μπορεί να ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση

- *Κινητά γενετικά στοιχεία* (π.χ. *τρανσποζόνια ή μεταθετά στοιχεία*). Είναι αξιοσημείωτο ότι, πάνω από το ένα τρίτο του ανθρώπινου γονιδιώματος αποτελείται από αυτά τα “μεταθετά γονίδια”. Τα τμήματα αυτά μπορούν να περιφέρονται στο γονιδίωμα και ενέχονται στη γονιδιακή ρύθμιση και στην οργάνωση της χρωματίνης.
- Ειδικές δομικές περιοχές του DNA, συμπεριλαμβανομένων των *τελομεριδίων* (χρωμοσωμικά άκρα) και των *κεντρομεριδίων*.

Είναι ενδιαφέρον ότι, **πολλές γενετικές παραλλαγές (πολυμορφισμοί) που σχετίζονται με νόσους εντοπίζονται σε περιοχές του γονιδιώματος που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες**. Έτσι, η μεταβολή της γονιδιακής ρύθμισης μπορεί να αποβεί περισσότερο σημαντική στην πρόκληση νόσου από ό,τι οι δομικές μεταβολές σε συγκεκριμένες πρωτεΐνες. Κάτι άλλο που προκαλεί έκπληξη και προέκυψε με την αλληλούχηση του γονιδιώματος, είναι το γεγονός ότι, δύο άτομα, τυπικά, είναι ταυτόσημα, όσον αφορά στο DNA, κατά >99.5% (και έχουν 99% ταυτόσημη αλληλουχία με τους χιμπατζήδες)! Έτσι, οι ατομικές διαφορές, συμπεριλαμβανομένων των διαφορετικής ευαισθησίας στις νόσους και την περιβαλλοντική έκθεση, κωδικοποιούνται σε <0.5% του DNA μας (αξιοσημείωτο ότι, αυτό το ποσοστό αντιπροσωπεύει 15 εκατομμύρια ζεύγη βάσεων).



Εικόνα 1–1 Οργάνωση του πυρηνικού DNA. Σε επίπεδο φωτομικροσκοπίου, το γενετικό υλικό του πυρήνα είναι οργανωμένο ως διασκορπισμένη, μεταγραφικά ενεργή *ευχρωματίνη* ή ως συμπυκνωμένη, μεταγραφικά αδρανής *ετεροχρωματίνη*. Η χρωματίνη μπορεί, επίσης, να συνδεθεί, μηχανικά, με την πυρηνική μεμβράνη, οι δε διαταραχή της πυρηνικής μεμβράνης μπορεί να επηρεάσει τη μεταγραφή. Τα χρωμοσώματα (όπως φαίνονται στην επόμενη σελίδα) είναι ορατά στο φωτομικροσκόπιο μόνο κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης. Κατά τη διάρκεια της γίτωσης, τα χρωμοσώματα οργανώνονται σε ζεύγη χρωματίδων οι οποίες συνδέονται στα *κεντρομερίδια*. Τα κεντρομερίδια δρουν ως ο τόπος για το σχηματισμό ενός πρωτεϊνικού συμπλέγματος *κινετοχωρίου*, που ρυθμίζει το διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων κατά τη μετάφαση. Τα τελομερή είναι επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες νουκλεοτιδίων, οι οποίες καλύπτουν τα άκρα των χρωματίδων και επιτρέπουν τον επαναλαμβανόμενο αναδιπλασιασμό των χρωμοσωμάτων χωρίς απώλεια DNA από τα άκρα των χρωμοσωμάτων. Οι χρωματίδες αποτελούνται από βραχεία (*P: petite*) και μακρά σκέλη (*Q – το επόμενο γράμμα στο αλφάβητο*). Το χαρακτηριστικό μοτίβο ζωνών των χρωματίδων αποδίδεται στο σχετικό περιεχόμενο GC (λιγότερο περιεχόμενο GC στις ζώνες σε σχέση με τις μεταξύ των ζωνών περιοχές), με τα γονίδια να τείνουν να εντοπίζονται στις μεταξύ των ζωνών περιοχές. Οι μεμονωμένες ίνες χρωματίνης συνίστανται από μια σειρά νουκλεοσωμάτων – το DNA περιελίσσεται γύρω από ένα κορμό οκταμερούς ιστόνης – με τα νουκλεοσώματα να συνδέονται μέσω συνδετών DNA. Οι υποκινητές είναι μη κωδικοποιούσες περιοχές του DNA, οι οποίοι ξεκινούν τη μεταγραφή γονιδίων. Βρίσκονται στην ίδια έλικα και σε ανοδική κατεύθυνση του συνδεδεμένου γονιδίου τους. Οι ενισχυτές είναι ρυθμιστικά στοιχεία, τα οποία μπορούν να ρυθμίσουν τη γονιδιακή έκφραση, σε μια απόσταση 100 kB ή περισσότερο μέσω επαναφοράς στους υποκινητές και επιστράτευσης επιπλέον παραγόντων, οι οποίοι είναι απαραίτητοι στο να κατευθύνουν την έκφραση του προ-mRNA. Στη συνέχεια η ακολουθία ιντρονίων αποσυνδέεται από το προ-mRNA για να παραχθεί το οριστικό μήνυμα, το οποίο περιλαμβάνει εξόνια που μεταφράζονται σε πρωτεΐνη και 3’- και 5’-μη μεταφρασμένες περιοχές (UTR), που μπορεί να έχουν ρυθμιστικές λειτουργίες. Εκτός από τον ενισχυτή, τον υποκινητή και τις ακολουθίες UTR, μη κωδικοποιούντα στοιχεία ανευρίσκονται σε ολόκληρο το γονιδίωμα. Αυτά περιλαμβάνουν βραχείες επαναλήψεις, περιοχές δέσμευσης ρυθμιστικών παραγόντων, μη κωδικοποιούντα ρυθμιστικά RNA και τρανσποζόνια.

Οι δύο πιο συχνές μορφές παραλλαγών DNA στο γονιδίωμα του ανθρώπινου είναι οι *μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί* (SNPs: single-nucleotide polymorphisms) και οι *παραλλαγές στον αριθμό των αντιγράφων* (CNVs: copy number variations).

- Οι *μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί* αφορούν σε παραλλαγές της θέσης των μονονουκλεοτιδίων και σχεδόν πάντα είναι διαλλαλικές (σε μια δεδομένη θέση, υπάρχουν μόνο δύο επιλογές, όπως Α ή Τ). Έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 6 εκατομμύρια μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί στον άνθρωπο, με πολλούς από αυτούς να εμφανίζουν μεγάλες διαφορές, όσον αφορά στη συχνότητα, στις διάφορες ομάδες πληθυσμών. Τα παρακάτω χαρακτηριστικά είναι άξια αναφοράς:
 - Οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί εμφανίζονται σε όλο το γονιδίωμα, ήτοι σε εξόνια, ιντρόνια, διαγονιδιακές περιοχές και περιοχές κωδικοποίησης.
 - Περίπου το 1% των μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών συμβαίνουν σε περιοχές κωδικοποίησης, κάτι το οποίο θα περίμενε κανείς, λόγω του ότι οι περιοχές κωδικοποίησης συνιστούν το 1.5% του γονιδιώματος.
 - Μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί, που βρίσκονται σε περιοχές, οι οποίες δεν κωδικοποιούν, μπορεί να συμβούν σε ρυθμιστικά στοιχεία του γονιδιώματος, αλλάζοντας, έτσι, τη γονιδιακή έκφραση. Σε αυτές τις περιπτώσεις οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί μπορεί να έχουν άμεση επίδραση στην ευαισθησία στη νόσο.
 - Οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί μπορεί, επίσης, να είναι “ουδέτερες” παραλλαγές, με καμιά επίδραση στη λειτουργία των γονιδίων ή στο φαινότυπο του ατόμου.
 - Ακόμη και οι “ουδέτεροι” μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί μπορεί να αποβούν χρήσιμοι δείκτες αν τυχαίνει να συν-κληρονομείται με γονίδιο που σχετίζεται με νόσο, ως αποτέλεσμα φυσικής εγγύτητας με το εν λόγω γονίδιο. Με άλλα λόγια, ο μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός και ο αιτιολογικός γενετικός παράγοντας βρίσκονται σε *έλλειψη ισορροπίας σύνδεσης*.
 - Η επίδραση των περισσότερων μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών στην επιρρέπεια στη νόσο είναι ασθενής και παραμένει να διαπιστωθεί εάν η ταυτοποίηση αυτών των παραλλαγών, μεμονωμένων ή σε συνδυασμό, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη αποτελεσματικών προγραμμάτων για την πρόβλεψη ή πρόληψη της νόσου.
 - Οι παραλλαγές στον αριθμό των αντιγράφων είναι μια μορφή γενετικής παραλλαγής, η οποία συνίσταται από διάφορο αριθμό μεγάλων συνεχόμενων τμημάτων DNA, τα οποία μπορεί να κυμαίνονται από 1000 έως εκατομμύρια ζεύγη βάσεων. Σε μερικές περιπτώσεις, οι γονιδιακοί αυτοί τόποι, όπως και οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί, είναι διαλλαλικοί, οι οποίοι σε ένα τμήμα του πληθυσμού απλώς αντιγράφονται ή απαλείφονται. Σε άλλες περιπτώσεις υπάρχουν πολύπλοκες αναδιατάξεις του γονιδιωματικού υλικού, με πολυάριθμα αλληλόμορφα γονίδια στον ανθρώπινο πληθυσμό. Οι παραλλαγές στον αριθμό των αντιγράφων είναι υπεύθυνες για αρκετές από τις διαφορές της αλληλουχίας των

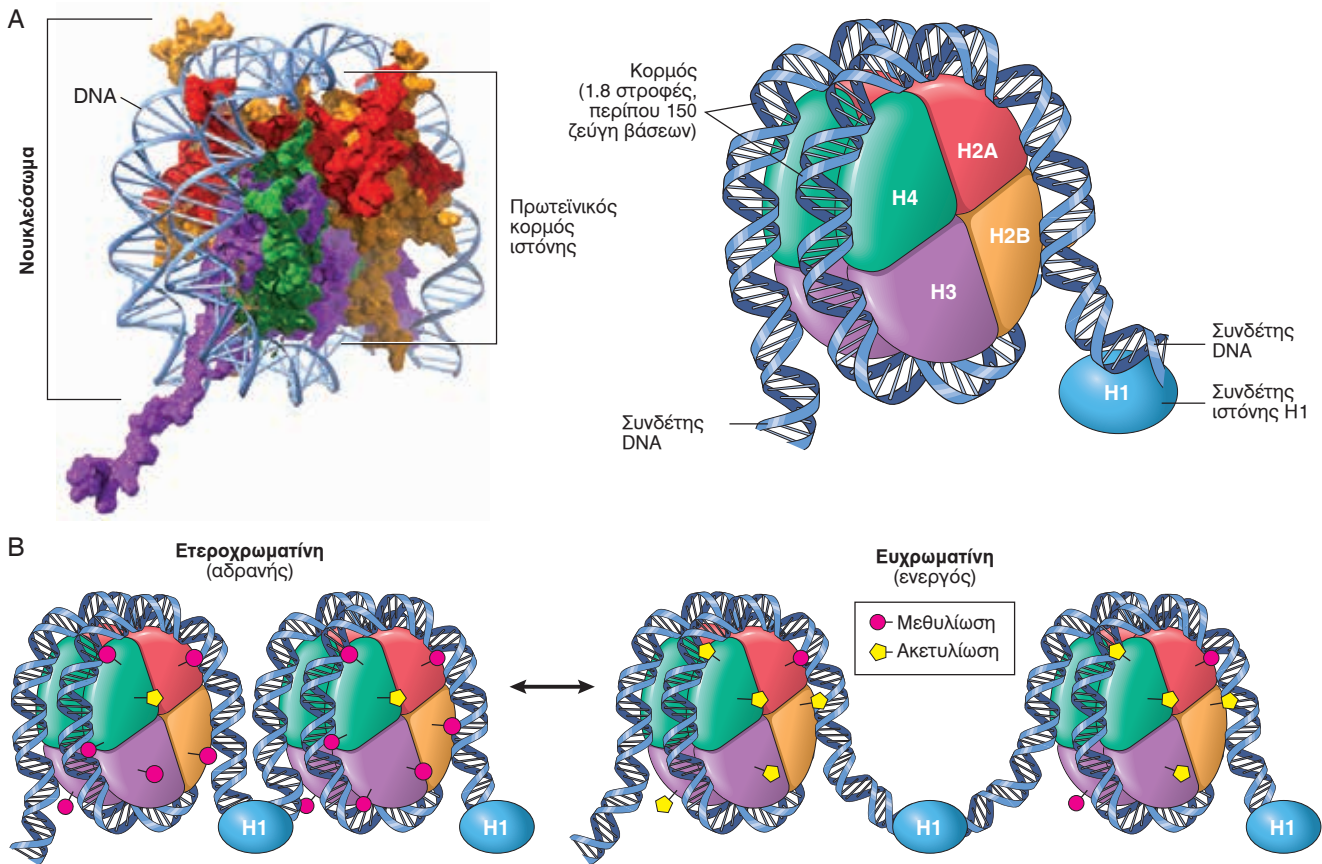
εκατομμυρίων ζευγών βάσεων, μεταξύ δύο ατόμων. Το 50% περίπου των παραλλαγών στον αριθμό των αντιγράφων, αφορά σε αλληλουχίες που κωδικοποιούν γονίδια και ως εκ τούτου, ένα μεγάλο μέρος της ποικιλομορφίας του φαινότυπου του ανθρώπου βασίζεται σε αυτό το γεγονός.

Είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι οι *μεταβολές της αλληλουχίας του DNA δεν μπορούν, από μόνες τους, να εξηγήσουν την ποικιλομορφία των φαινότυπων στους ανθρώπους*. Επιπλέον, οι κανόνες κληρονομικότητας της κλασικής γενετικής δεν μπορούν να εξηγήσουν τους διαφορετικούς φαινότυπους σε μονοζυγώτες διδύμους. Οι απαντήσεις σε αυτά τα αινίγματα βρίσκονται, πιθανόν, στην *επιγενετική*, ήτοι τις κληρονομικές αλλαγές στην έκφραση γονιδίων, οι οποίες δεν προκαλούνται από μεταβολές της αλληλουχίας του DNA (βλέπε παρακάτω).

Οργάνωση της δομής των ιστονών

Αν και, πρακτικώς, όλα τα κύτταρα του οργανισμού έχουν την ίδια γενετική σύσταση, τα διαφοροποιημένα κύτταρα έχουν συγκεκριμένες δομές και λειτουργίες, προερχόμενες μέσω ειδικών για την κυτταρική σειρά προγραμμάτων γονιδιακής έκφρασης. Αυτές οι ειδικές για τον τύπο του κυττάρου διαφορές στη μεταγραφή και μετάφραση του DNA ρυθμίζονται από *επιγενετικές* τροποποιήσεις, οι οποίες συνίστανται από αρκετές αλλαγές, που επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση και περιλαμβάνουν:

- *Οργάνωση της δομής της χρωματίνης* (Εικ. 1.2). Το DNA του γονιδιώματος είναι “συσκευασμένο” σε νουκλεοσώματα, τα οποία αποτελούνται από 147 τμήματα ζεύγη βάσεων DNA, περιτυλιγμένα γύρω από έναν κεντρικό πυρήνα πρωτεϊνών, οι οποίες ονομάζονται *ιστόνες*. Τα νουκλεοσώματα μοιάζουν με χάντρες συνδεδεμένες με βραχείς DNA συνδετήρες. Η όλη δομή ονομάζεται *χρωματίνη*. Σημαντικό είναι ότι, η περιέλιξη και συμπύκνωση της χρωματίνης σε ένα οποιοδήποτε κύτταρο διαφέρει στις διάφορες περιοχές του γονιδιώματος. Έτσι, η χρωματίνη του πυρήνα υπάρχει υπό δύο βασικές μορφές (ορατές ιστολογικά): (1) ως ιστοχημικώς πυκνή και μεταγραφικώς αδρανής *ετεροχρωματίνη* και, (2) ως ιστοχημικώς διασκορπισμένη και μεταγραφικώς ενεργός *ευχρωματίνη*. Λόγω του ότι μόνο η ευχρωματίνη επιτρέπει τη γονιδιακή έκφραση και ως εκ τούτου υπαγορεύει την ταυτοποίηση και δραστηριότητα του κυττάρου, υπάρχει μια σειρά μηχανισμών, οι οποίοι ελέγχουν αυστηρά την κατάσταση της χρωματίνης (περιγράφονται παρακάτω).
- *Μεθυλίωση του DNA*. Τα υψηλά επίπεδα μεθυλίωσης του DNA σε ρυθμιστικά στοιχεία των γονιδίων, τυπικά, καταλήγουν σε πύκνωση της χρωματίνης και μεταγραφική σίγαση. Όπως και οι τροποποιήσεις των ιστονών (βλέπε παρακάτω), η μεθυλίωση του DNA ρυθμίζεται αυστηρά από μεθυλτρασφεράσες, ένζυμα απομεθυλίωσης και πρωτεΐνες συνδεδεμένες με μεθυλιωμένο DNA.
- *Παράγοντες τροποποίησης ιστονών*. Τα νουκλεοσώματα είναι εξαιρετικά δυναμικές δομές που ρυθμίζονται από μια σειρά πυρηνικών πρωτεϊνών και μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων:
 - Τα *συμπλέγματα αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης* μπορούν να επανατοποθετίσουν νουκλεοσώματα στο DNA, εκθέτοντας (ή αποκρύπτοντας) ρυθμιστικά στοιχεία των γονιδίων, όπως οι υποκινητές.



Εικόνα 1–2 Οργάνωση χρωματίνης. (Α) Τα νουκλεοσώματα αποτελούνται από οκταμερή ιστονικών πρωτεϊνών (κάθε ένα από δύο υπομονάδες ιστονών H2A, H2B, H3 και H4) περικυκλωμένα από 1.8 θηλιές των 147 ζεύγη βάσεων DNA. Η ιστόνη H1 επικάθεται στον μεταξύ των νουκλεοσωμάτων DNA συνδέτη, ο οποίος αποτελείται από 20 έως 80 νουκλεοτίδια και βοηθάει στη σταθεροποίηση ολόκληρης της αρχιτεκτονικής του χρωμοσώματος. Οι υπομονάδες των ιστονών έχουν θετικό φορτίο, επιτρέποντας έτσι τη συμπύκνωση του αρνητικά φορτισμένου DNA. (Β) Η σχετική κατάσταση της εκτυλίξεως του DNA (έτσι ώστε να υπάρχει πρόσβαση σε μεταγραφικούς παράγοντες) ρυθμίζεται από τροποποιήσεις των ιστονών, για παράδειγμα, μέσω ακετυλίωσης, μεθυλίωσης, ή/και φωσφορυλίωσης (τα επονομαζόμενα “σημάδια”). Τα σημάδια γράφονται δυναμικά και διαγράφονται. Ορισμένα σημάδια, όπως η ακετυλίωση ιστονών “ανοίγει” τη δομή της χρωματίνης, ενώ άλλα, όπως η μεθυλίωση ορισμένων κατάλοιπων ιστονών, τείνουν να συμπυκνώσουν το και να οδηγήσουν σε γονιδιακή σίγηση. Το ίδιο το DNA, επίσης, μπορεί να υποστεί μεθυλίωση, μια τροποποίηση η οποία σχετίζεται με απενεργοποίηση μεταγραφής.

- Τα συμπλέγματα “διαμόρφωσης της χρωματίνης” πραγματοποιούν περισσότερες από 70 διαφορετικές ομοιοπολικές τροποποιήσεις ιστονών που, γενικώς, αναφέρονται ως *σημάδια*. Αυτά περιλαμβάνουν μεθυλίωση, ακετυλίωση και φωσφορυλίωση συγκεκριμένων κατάλοιπων αμινοξέων ιστονών: Η *μεθυλίωση των κατάλοιπων λυσίνης και αργινίνης των ιστονών* πραγματοποιείται από ειδικά ένζυμα. Η μεθυλίωση των κατάλοιπων λυσίνης των ιστονών μπορεί να οδηγήσει σε ενεργοποίηση ή καταστολή της μεταγραφής, ανάλογα με το ποιο κατάλοιπο ιστόνης είναι “σημαδεμένο”. Η *ακετυλίωση των κατάλοιπων λυσίνης των ιστονών* (που γίνεται μέσω της ακετυλοτρανσφεράσης των ιστονών) ανοίγει τη χρωματίνη και αυξάνει τη μεταγραφή. Η διεργασία αυτή αντιστρέφεται με την αποακετυλάση των ιστονών (HDAC: **histone deacetylase**), οδηγώντας σε πύκνωση της χρωματίνης. Η *φωσφορυλίωση των κατάλοιπων σερίνης των ιστονών* μπορεί, αδιακρίτως, να προκαλέσουν άνοιγμα ή πύκνωση της χρωματίνης, ώστε να αυξηθεί ή να ελαττωθεί μεταγραφή, αντιστοίχως.
- Τα “σημάδια” των ιστονών είναι αναστρέψιμα μέσω της δράσης των “σβηστήρων χρωματίνης”. Άλλες πρωτεΐνες λειτουργούν ως “αναγνώστες χρωματίνης”.

Οι μηχανισμοί που ενέχονται στην ειδική για το κύτταρο επιγενετική ρύθμιση της οργάνωσης του γονιδιώματος και της γονιδιακής έκφρασης είναι, αδιαμφισβήτητα, πολύπλοκοι. Παρά την πολυπλοκότητα, η απόκτηση εμπειρίας στο χειρισμό ατών των διαδικασιών είναι πολύ πιθανό να επιφέρει σημαντικό θεραπευτικό όφελος, δεδομένου του ότι πολλές νόσοι σχετίζονται με κληρονομούμενες ή επίκτητες επιγενετικές μεταβολές και η απορρύθμιση του “επιγονιδιώματος” έχει κεντρικό ρόλο στη γένεση καλοήθων και κακοήθων νεοπλασμάτων (Κεφάλαιο 6). Επιπλέον – σε αντίθεση με τις γενετικές μεταβολές – οι επιγενετικές μεταβολές (π.χ. ακετυλίωση ιστονών και μεθυλίωση του DNA) είναι εύκολα αναστρέψιμες και, ως εκ τούτου, επιδεκτικές παρεμβάσεων. Όντως οι αναστολείς της ιστονικής αποακετυλάσης (HDAC) και οι αναστολείς της μεθυλίωσης του DNA χρησιμοποιούνται ήδη στη θεραπευτική αντιμετώπιση διάφορων τύπων καρκίνου.

Μικρο-RNA και μεγάλο μη-κωδικοποιούν RNA

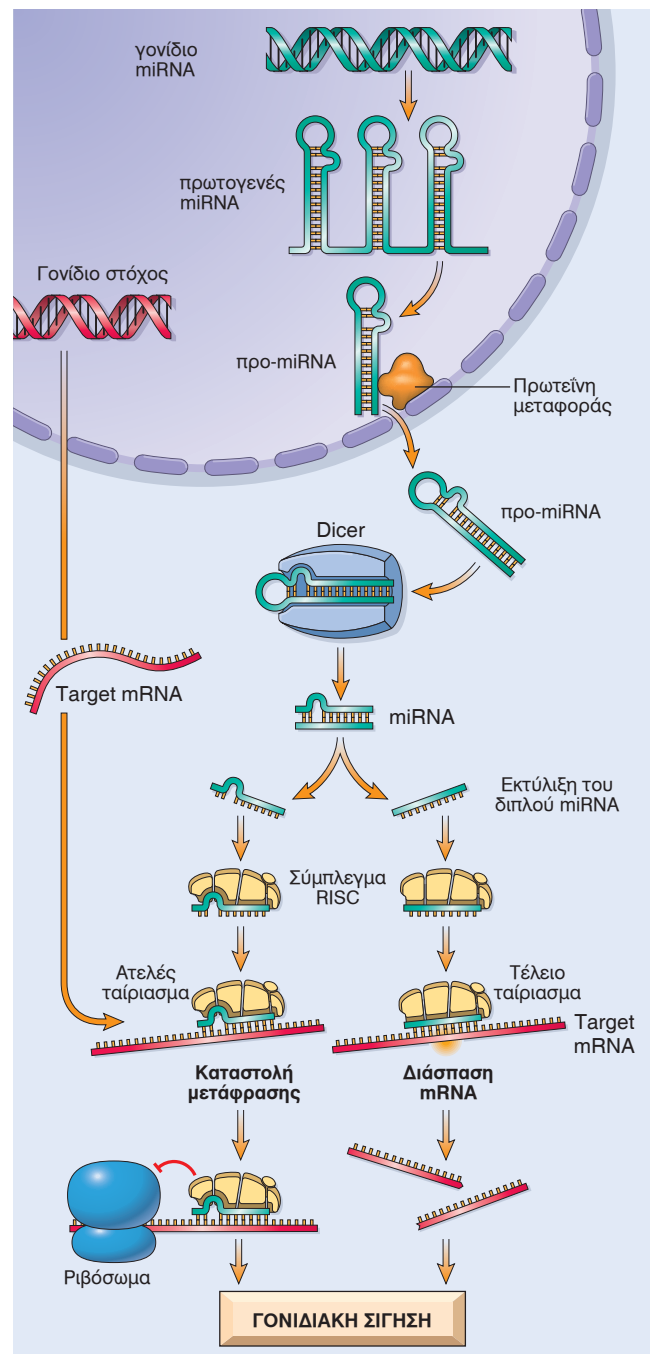
Ένας άλλος μηχανισμός γονιδιακής ρύθμισης είναι αυτός που εξαρτάται από τις λειτουργίες των μη κωδικοποιούντων RNA. Όπως υποδηλώνει και ο όρος, αυτά αφορούν σε γονίδια τα οποία μεταγράφονται αλλά δεν μεταφράζονται.

Αν και υπάρχουν πολλές συγκεκριμένες οικογένειες μη κωδικοποιούντων RNA, εδώ αναφέρονται μόνο δύο παραδείγματα: τα μικρά μόρια RNA, που ονομάζονται μικροRNA και τα μεγάλα μη-κωδικοποιούντα RNA, μήκους άνω των 200 νουκλεοτιδίων.

- Τα μικροRNA (miRNA) είναι μικρού, σχετικώς, μήκους RNA (22 νουκλεοτιδίων κατά μέσον όρο) και η κυρίως λειτουργία τους είναι να ρυθμίζουν τη μετάφραση των RNA στόχων στις αντίστοιχες πρωτεΐνες τους. **Η μεταγραφική σίγηση της γονιδιακής έκφρασης αποτελεί ένα θεμελιώδη και εξελικτικά συντηρημένο μηχανισμό της γονιδιακής ρύθμισης σε όλους τους ευκαριωτικούς οργανισμούς (φυτά και ζώα).** Ακόμη και τα βακτηρίδια έχουν μια αρχέγονη εκδοχή του ίδιου γενικού μηχανικού εξοπλισμού, τον οποίο χρησιμοποιούν για να προστατεύσουν τον εαυτό τους από ξένο DNA (π.χ. από βακτηριοφάγους και ιούς).
- Το γονιδίωμα του ανθρώπου περιέχει περίπου 6000 γονίδια που κωδικοποιούν μικροRNA, μόνο κατά 3.5 φορές λιγότερα από τον αριθμό των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Επιπλέον, επιμέρους μικροRNA φαίνεται να ρυθμίζουν πολυάριθμα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, επιτρέποντας σε κάθε μικροRNA να συνρρυθμίζει ολόκληρα προγράμματα γονιδιακής έκφρασης. Η μεταγραφή των γονιδίων των μικροRNA παράγει ένα πρωτογενές μετάγραφο (pri-miRNA), το οποίο υφίσταται επεξεργασία σε προοδευτικά μικρότερα τμήματα, συμπεριλαμβανομένης και της περικοπής με το ένζυμο *Dicer*. Αυτό δημιουργεί ώριμα, μονής έλικας μικροRNA, τα οποία αποτελούνται από 21 έως 30 νουκλεοτίδια και σχετίζονται με ένα πολυπρωτεϊνικό σύνολο, που ονομάζεται σύμπλεγμα σίγησης επαγόμενο από RNA (RISC: RNA-induced silencing complex, **Εικ. 1.3**). Στη συνέχεια, η αντιστοίχιση βάσεων μεταξύ της έλικας του μικροRNA και του mRNA-στόχου του, οδηγεί το επαγόμενο από RNA σύμπλεγμα σίγησης είτε να προκαλέσει διάσπαση του mRNA είτε να καταστείλει τη μετάφρασή του. Με τον τρόπο αυτό, το mRNA-στόχος υπόκειται σε *μετα-μεταγραφική σίγηση*.

Εκμεταλλούμενοι την ίδια οδό, μπορούν να εισαχθούν στα κύτταρα μικρά RNA (*siRNA*) παρεμπόδισης της έκφρασης, τα οποία είναι βραχέων αλληλουχιών RNA. Αυτά χρησιμεύουν ως υπόστρωμα για το *Dicer* και αλληλοαντιδρούν με το επαγόμενο από RNA σύμπλεγμα σίγησης, με τρόπο ανάλογο με αυτό των ενδογενών μικροRNA. Ως εκ τούτου, τα συνθετικά siRNA, τα οποία μπορούν να στοχεύουν συγκεκριμένα είδη mRNA, αποτελούν ισχυρά εργαστηριακά εργαλεία για τη μελέτη της γονιδιακής λειτουργίας (την αποκαλούμενη τεχνολογία αποκοπής γονιδίου). Επίσης, είναι πολλά υποσχόμενοι θεραπευτικοί παράγοντες στο να σιγήσουν τα παθογόνα γονίδια, π.χ. ογκογονίδια που ενέχονται στη νεοπλασματική εξαλλαγή.

- **Μεγάλο μη κωδικοποιούν RNA (*lncRNA*: long noncoding RNA).** Το γονιδίωμα του ανθρώπου περιέχει, επίσης, ένα πολύ μεγάλο αριθμό μεγάλων μη κωδικοποιούντων RNA – τουλάχιστον 30.000, με το συνολικό αριθμό να υπερβαίνει, δυνητικώς, αυτόν των κωδικοποιούντων mRNA κατά 10 με 20 φορές. Τα μεγάλα μη κωδικοποιούντα RNA ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση με πολλούς τρόπους (**Εικ. 1.4**). Για παράδειγμα, μπορούν να δεσμεύονται σε περιοχές της χρωματίνης, περιορίζοντας τη πρόσβαση της RNA πολυμεράσης στα



Εικόνα 1-3 Παραγωγή μικροRNA (miRNA) και ο τρόπος δράσης στη ρύθμιση της γονιδιακής λειτουργίας. Τα γονίδια των μικροRNA μεταγράφονται και δημιουργούν ένα πρωτογενές μικροRNA (pri-miRNA), το οποίο εξεργάζεται μέσα στον πυρήνα για να σχηματισθεί προ-μικροRNA (pre-miRNA), που συνίσταται από ένα μονής έλικας RNA και με δευτερογενείς, δίκην φουρκέτας, δομές, οι οποίες σχηματίζουν τμήματα διπλής έλικας RNA. Μετά από αυτό, το προ-miRNA εξέρχεται από τον πυρήνα μέσω ειδικών πρωτεϊνών-μεταφορών. Το κυτταροπλασματικό ένζυμο *Dicer* περικόπτει το προ-miRNA ώστε να παραχθεί ώριμο, διπλής έλικας miRNA αποτελούμενο από 21 έως 30 νουκλεοτίδια. Στη συνέχεια, το μικροRNA ξετυλίγεται και οι μονές έλικες ενσωματώνονται στην πολυπρωτεϊνή RISC. Ο σχηματισμός ζευγών βάσεων μεταξύ του μονής έλικας μικροRNA και του mRNA-στόχου του, οδηγεί την RISC είτε να διασπάσει το mRNA-στόχο είτε να καταστείλει τη μετάφρασή του. Σε κάθε περίπτωση, το γονίδιο του mRNA-στόχου σιγεί μετα-μεταγραφικώς,