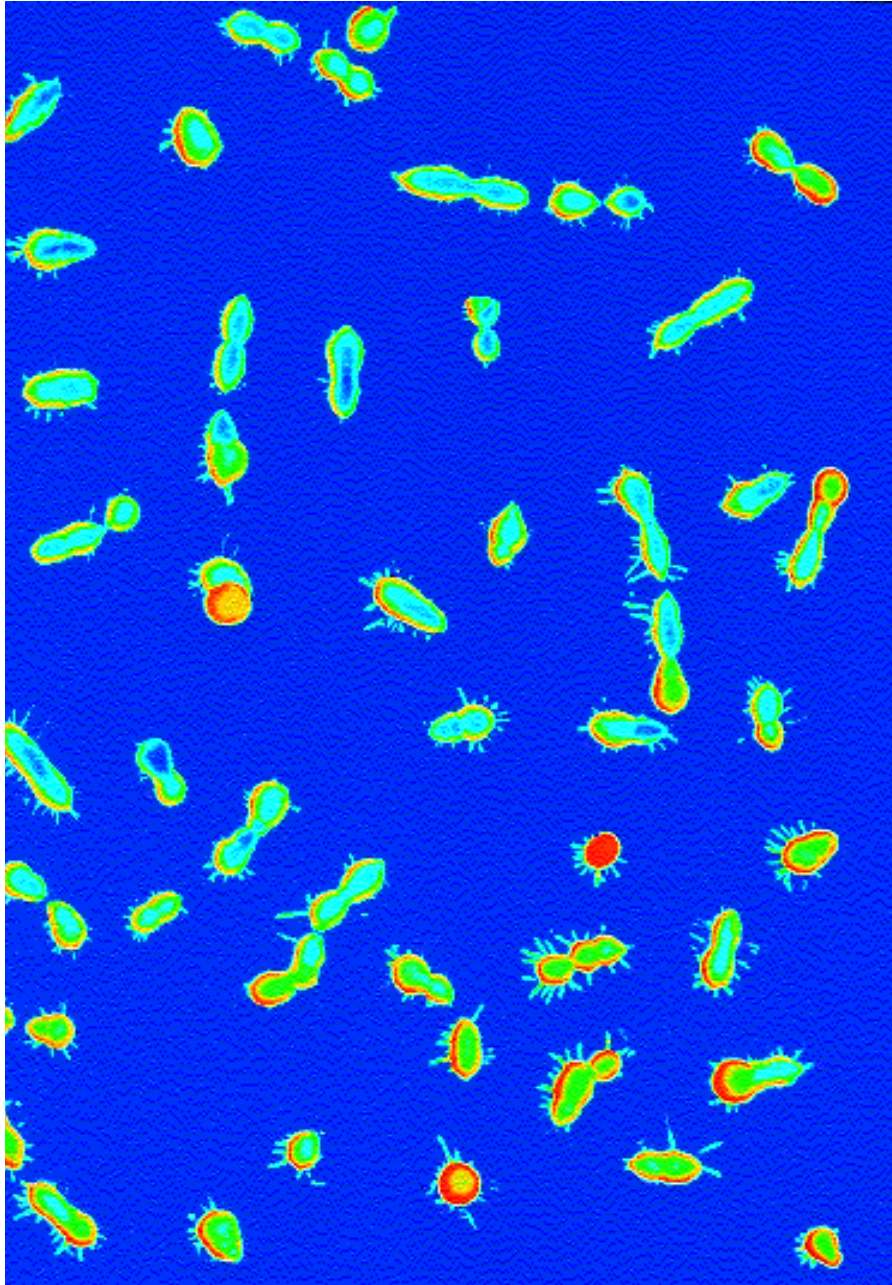


Το γενετικό υλικό



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

κεφάλαιο

1

1. Το γενετικό υλικό

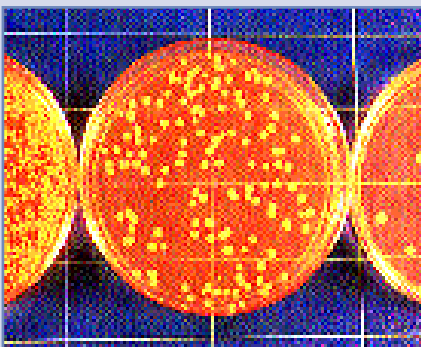
Το DNA είναι το γενετικό υλικό

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

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

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

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



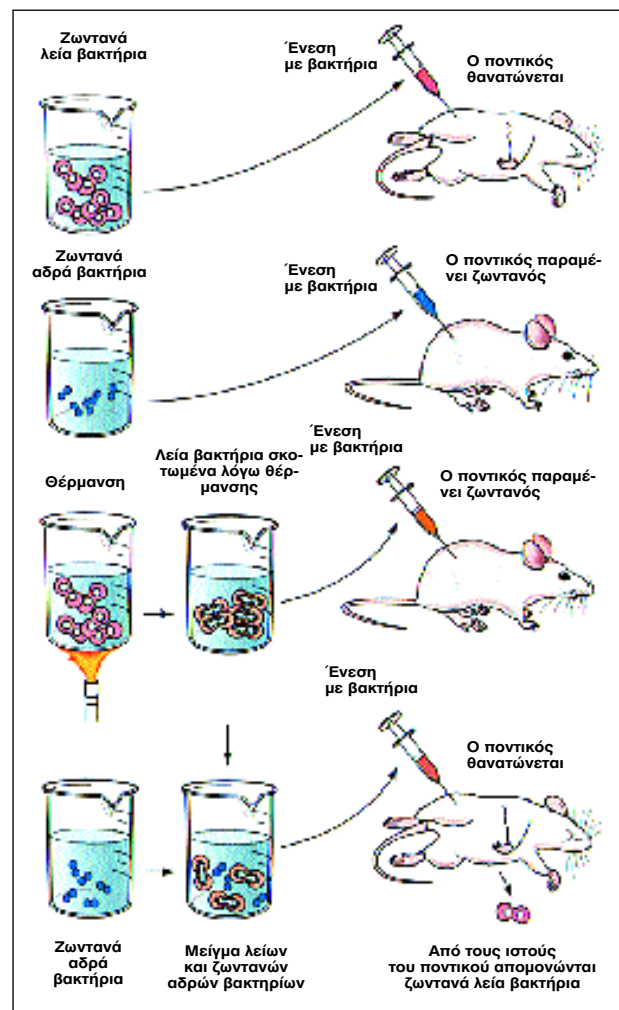
οι οποίοι παρέμεναν ζωντανοί. Όταν όμως ανέμιξε νεκρά λεία βακτήρια με ζωντανά αδρά και με το μείγμα μόλυνε ποντικούς, τότε αυτοί πέθαναν. Στο αίμα των νεκρών ποντικών βρέθηκαν ζωντανά λεία βακτήρια. Ο Griffith συμπέρανε ότι μερικά αδρά βακτήρια “μετασχηματίστηκαν” σε λεία παθογόνα ύστερα από αλληλεπίδραση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

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

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

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

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

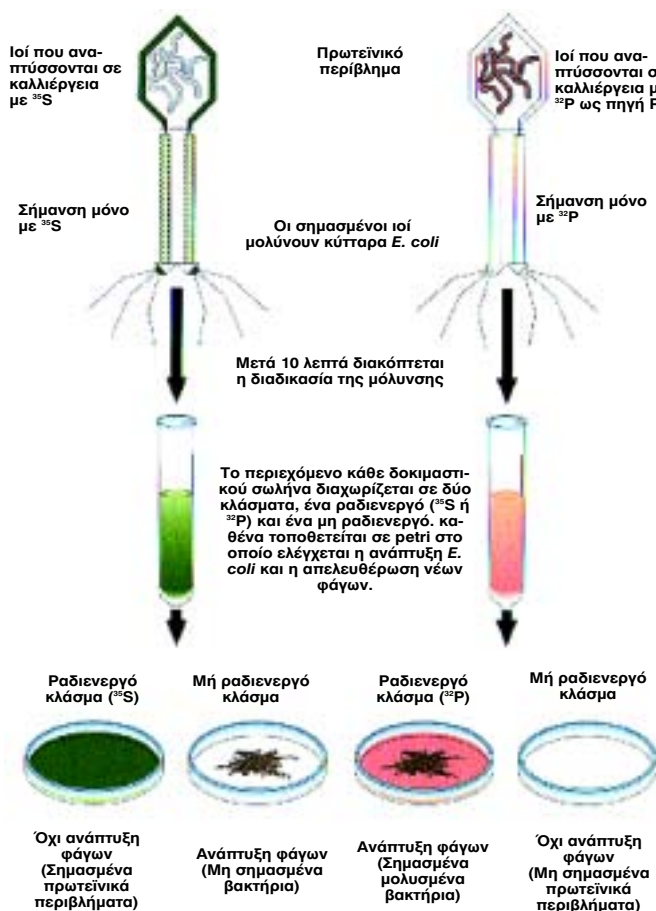


ανθρώπου σε αυτά του σπλήνα, της καρδιάς, του ήπατος κτλ.

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

Η οριστική επιβεβαίωση ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό ήλθε το 1952 με τα κλασικά πειράματα των Hershey και Chase οι οποίοι μελέτησαν τον κύκλο ζωής του βακτηριοφάγου T₂. Οι ερευνητές ιχνηθέτησαν τους φάγους με ραδιενεργό ³⁵S, που ανιχνεύει τις πρωτεΐνες αλλά όχι το DNA, και με ραδιενεργό ³²P, που ανιχνεύει το DNA αλλά όχι τις πρωτεΐνες. Στη συνέχεια με ραδιενεργούς φάγους μόλυναν βακτήρια. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μόνο το DNA των φάγων εισέρχεται στα βακτηριακά κύτταρα και είναι ικανό να “δώσει τις απαραίτητες εντολές”, για να πολλαπλασιαστούν και να παραχθούν οι νέοι φάγοι (Εικόνα 1.2).

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



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

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

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

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

Ταξίδι στο χρόνο

1869. Απομονώνεται DNA από τον κυτταρικό πυρήνα.

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

1944. Αποδεικνύεται ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό.

1953. Ανακαλύπτεται η δομή της διπλής έλικας του DNA.

Το DNA αποιεθίζεται από νουκλεοτίδια, που ενώνονται με φωσφοδιεστερικό δεσμό

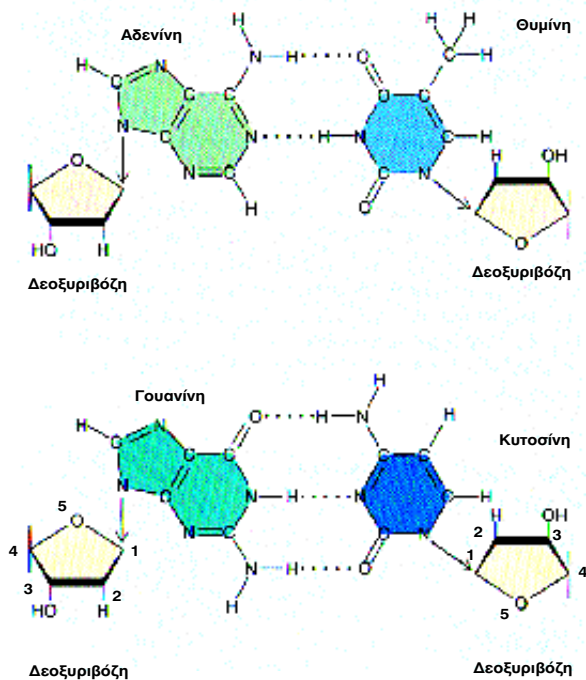
Το DNA, όπως και το RNA, είναι ένα μακρομόριο, που αποτελείται από **νουκλεοτίδια**. Κάθε νουκλεοτίδιο του DNA αποτελείται από μία πεντόζη, τη δεοξυριβόζη, ενωμένη με μια φωσφορική ομάδα και μια αζωτούχο βάση. Στα νουκλεοτίδια του DNA η αζωτούχος βάση μπορεί να είναι μια από τις: αδενίνη (A), γουανίνη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

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

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

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

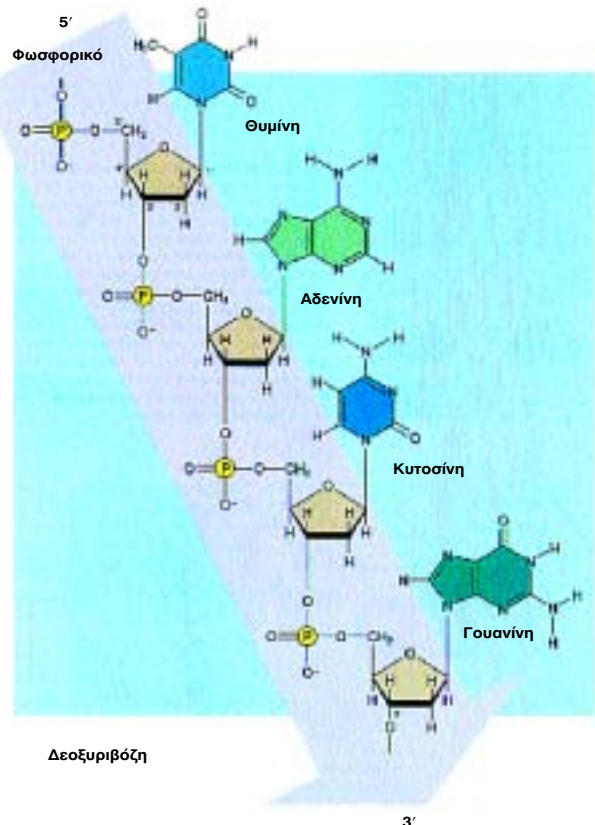
Εικόνα 1.3. Οι τέσσερις αζωτούχες βάσεις του DNA. Η αδενίνη συνδέεται με την θυμίνη με δύο υδρογονικούς δεσμούς και η γουανίνη συνδέεται με την κυτοσίνη με τρεις υδρογονικούς δεσμούς.

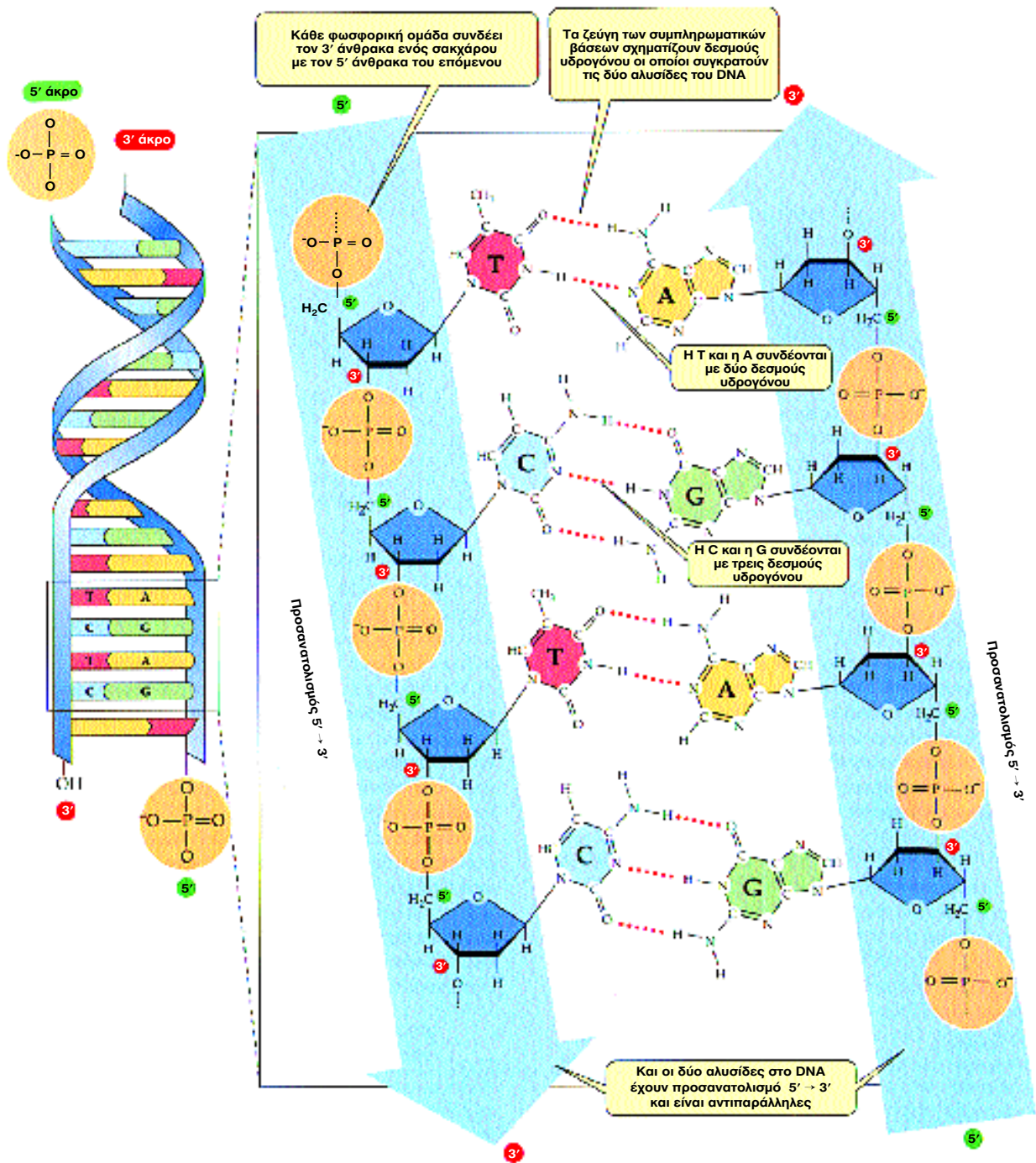


φέρει από είδος σε είδος και σχετίζεται με το είδος του οργανισμού. Τα αποτελέσματα αυτά σε συνδυασμό με αποτελέσματα που αφορούσαν την απεικόνιση του μορίου του DNA με χρήση ακτίνων-X βοήθησαν στην ανακάλυψη της διπλής έλικας του DNA και απέδειξαν τις μοναδικές ιδιότητές του που το καθιστούν μόριο ιδανικό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

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

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





Εικόνα 1.5 Δίκλωνη έλικα του DNA.

σταθερού αυτού σκελετού βρίσκονται οι αζωτούχες βάσεις που είναι υδρόφοβες.

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

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

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

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

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

Το γενετικό υλικό ελέγχει όλες τις λειτουργίες του κυττάρου

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

Συνοπτικά οι λειτουργίες του γενετικού υλικού είναι:

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

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

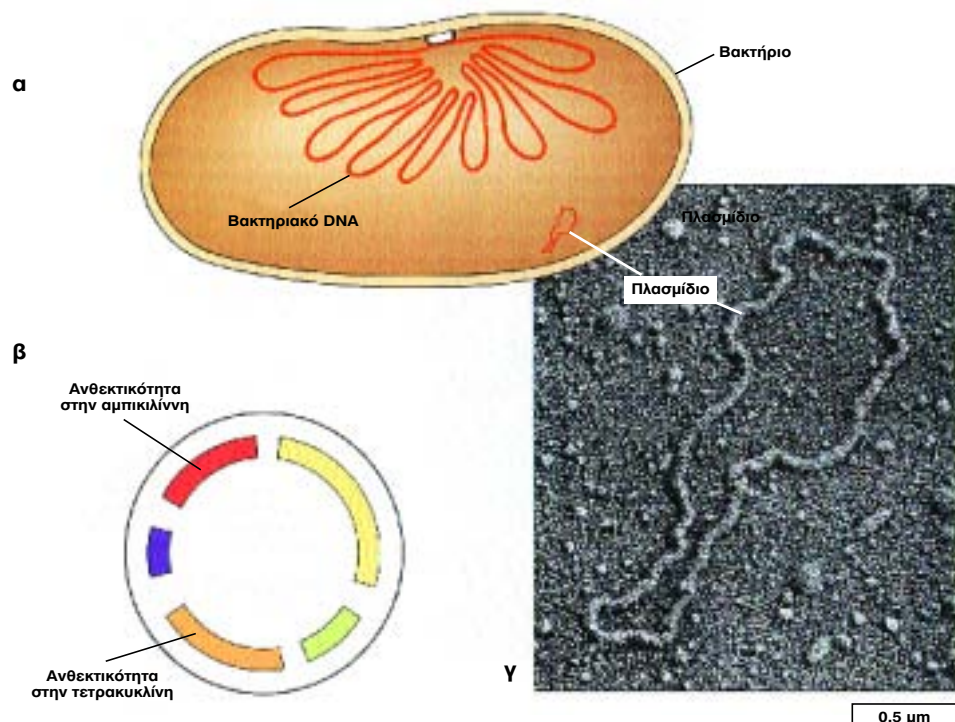
φέρεται στο γενετικό υλικό που βρίσκεται στον πυρήνα.

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

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.1: Μέγεθος γονιδιώματος διάφορων οργανισμών

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

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



Το γενετικό υλικό των προκαρυωτικών κυττάρων είναι ένα κυκλικό μόριο DNA

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

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

Το γενετικό υλικό των ευκαρυωτικών οργανισμών έχει πολύπλοκη οργάνωση

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

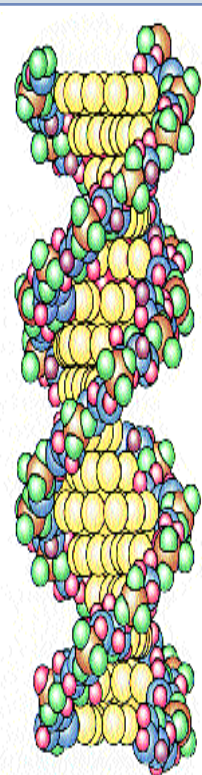
Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, ύστερα από ειδική επεξεργασία, τα ινίδια χρωματίνης μοιάζουν με κομπολόγια από χάντρες. Κάθε "χάντρα" ονομάζεται **νουκλεόσωμα** και αποτελεί τη βασική μονάδα οργάνωσης της χρωματίνης. Το νουκλεόσωμα αποτελείται από DNA μήκους 146 ζευγών βάσεων και από οκτώ μόρια πρωτεϊνών,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

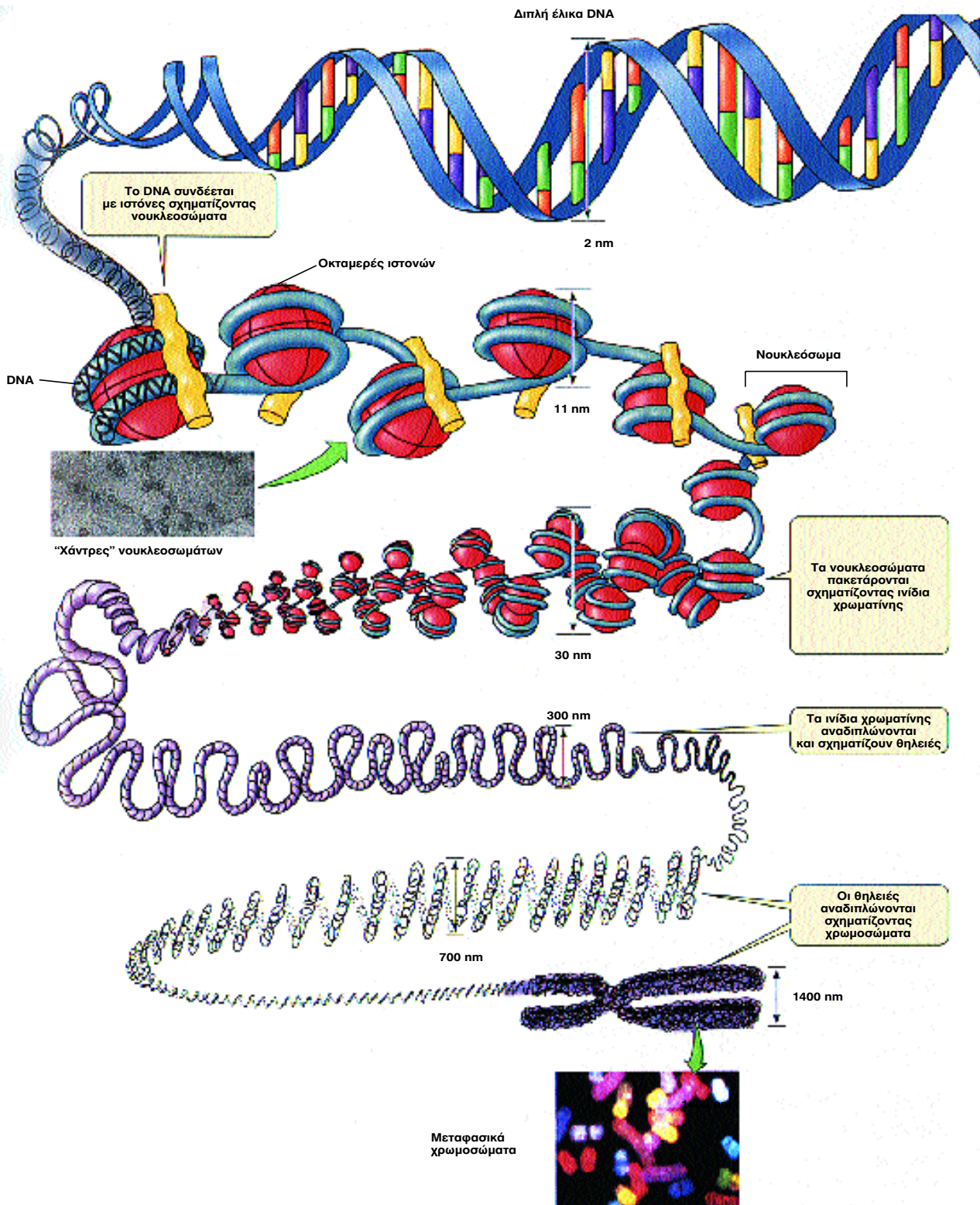
στόνες. Το DNA είναι τυλιγμένο γύρω από το οκταμερές των ιστονών (Εικόνα 1.7). Τα νουκλεοσώματα αναδιπλώνονται με αποτέλεσμα το DNA να πακετάρεται σε μεγαλύτερο βαθμό, σχηματίζοντας τελικά τα ινίδια της χρωματίνης. Στην αναδίπλωση συμμετέχουν και άλλα είδη πρωτεϊνών, οι **μη-ιστόνες**.

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

Η Μοριακή Βιολογία με αριθμούς

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



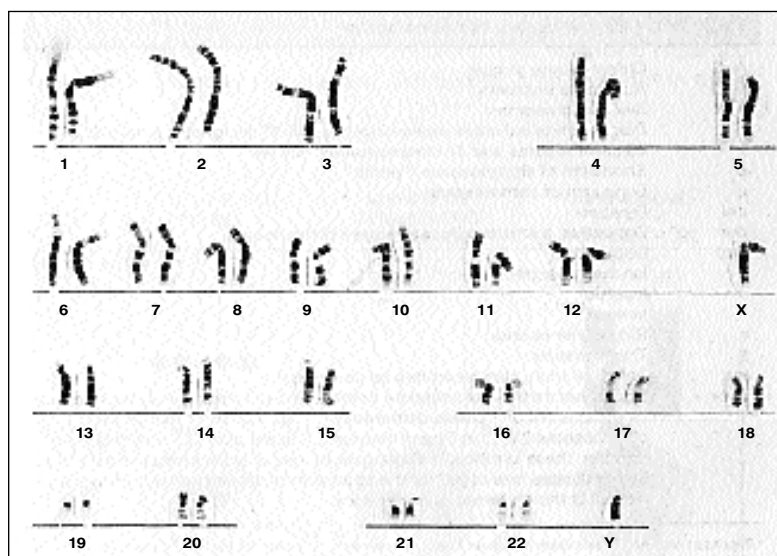


Εικόνα 1.7 Επίπεδα πακεταρίσματος του DNA στο μιτωτικό χρωμόσωμα. Στο κάτω μέρος της εικόνας φαίνονται μιτωτικά χρωμοσώματα στο οπτικό μικροσκόπιο.

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

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

Εικόνα 1.8 Καρυότυπος φυσιολογικού άρρενος (χρώση G).



Παρατήρηση των χρωμοσωμάτων του ανθρώπου - Καρυότυπος

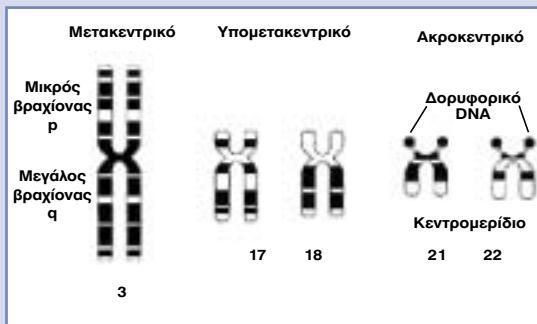
Το ανθρώπινο γονιδίωμα σε ένα απλοειδές κύτταρο αποτελείται από περίπου 3×10^9 ζεύγη βάσεων DNA, που είναι οργανωμένα σε 23 χρωμοσώματα. Η μελέτη των χρωμοσωμάτων είναι δυνατή μόνο σε κύτταρα τα οποία διαιρούνται. Τα κύτταρα αυτά μπορεί να προέρχονται είτε από ιστούς που διαιρούνται φυσιολογικά είτε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

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

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

Η θέση του κεντρομεριδίου καθορίζει το σχήμα του χρωμοσώματος

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



Ταξίδι στο χρόνο

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

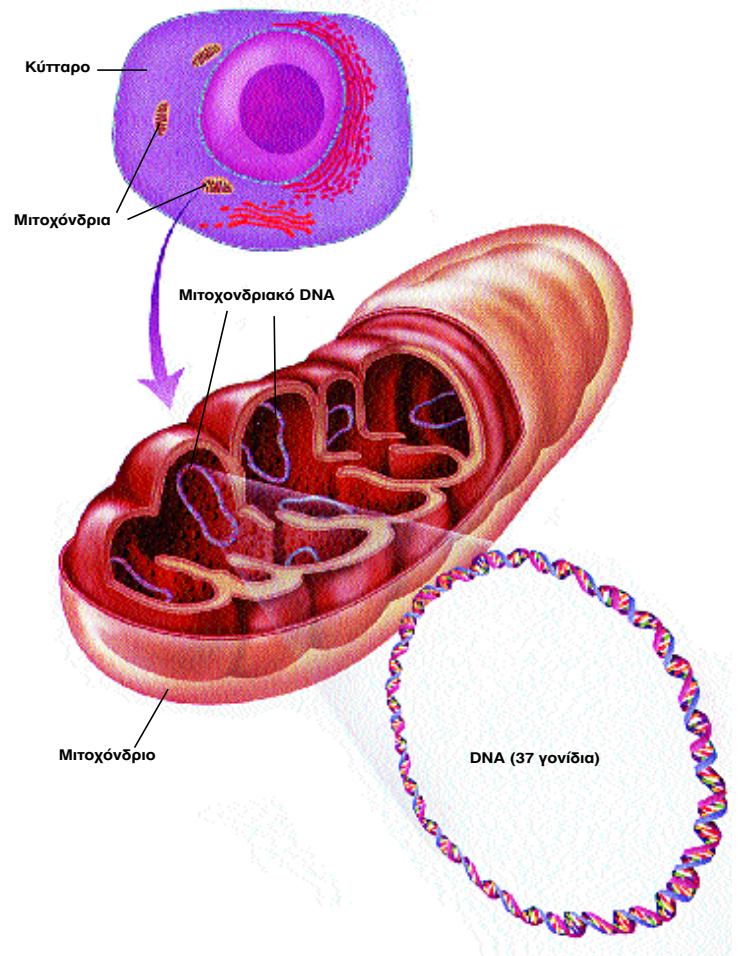
Το 1960 οι Nowel, Moorehead και Hungerford επιτυγχάνουν να καλλιεργήσουν λεμφοκύτταρα με χρήση φυτοαιμαγλουτινίνης στο εργαστήριο. Το 1960 πραγματοποιείται στο Denver διάσκεψη και καθορίζεται το σύστημα ονοματολογίας των ανθρώπινων μεταφασικών χρωμοσωμάτων.

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

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

Τα μιτοχόνδρια και οι χλωροπλάστες έχουν το δικό τους γενετικό υλικό

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



Εικόνα 1.9 Ένα μιτοχόνδριο περιέχει πολλά μόρια κυκλικού DNA.

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

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

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

Μιτοχονδριακές ασθένειες και γήρανση

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

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

Οι ιοί έχουν γενετικό υλικό DNA ή RNA

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

Περίληψη

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

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

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