

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

Μυρτώ Αρετή Κωσταδήμα*, Ελένη Κατσαντώνη°, Σοφία Κοσσίδα*

** Ομάδα Βιοπληροφορικής και Ιατρικής Πληροφορικής, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών*

° Τομέας Αιματολογίας-Ογκολογίας, Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών

Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί μια μεγάλη αύξηση των διαθέσιμων βιολογικών δεδομένων. Ερευνητικά προγράμματα με σκοπό την αποκρυπτογράφηση του DNA διαφόρων οργανισμών είχαν ως αποτέλεσμα τη συγκέντρωση μεγάλης ποσότητας πληροφορίας. Οι πληροφορίες αυτές για να είναι χρήσιμες στους ερευνητές, θα πρέπει να είναι διαθέσιμες σε όλους ανά πάσα στιγμή για περαιτέρω μελέτη.

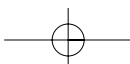
Παράλληλα, έχει λάβει χώρα μια εκθετική αύξηση στην ταχύτητα και στο μέγεθος της μνήμης των διαθέσιμων υπολογιστών. Το γεγονός αυτό δεν θα μπορούσε παρά να συμβάλει κατά το μέγιστο, ώστε αυτοί οι δύο τομείς να αρχίζουν να «συνεργάζονται» εκτενώς. Με κάποια δειλά βήματα στην αρχή, αλλά αρκετά στην πορεία, δημιουργήθηκε ένας καινούργιος τομέας, αυτός της βιοπληροφορικής.

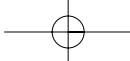
Το κεφάλαιο αυτό είναι εισαγωγικό και σκοπό έχει να ρίξει φως σε κάποιες βασικές έννοιες της βιολογίας, οι οποίες είναι απαραίτητες σε όποιον θέλει να ασχοληθεί με τη βιοπληροφορική. Επιπλέον, σημειώνονται κάποια σημαντικά ιστορικά γεγονότα για τον τομέα της βιοπληροφορικής και δίνονται οι απαραίτητες πληροφορίες γύρω από την έννοια της βιοπληροφορικής και τους τομείς με τους οποίους ασχολείται.

Βιολογικές έννοιες

Κύτταρο-Δομικό στοιχείο ζωής

Το κύτταρο είναι η δομική και λειτουργική μονάδα όλων των ζωντανών οργανισμών και καλείται συχνά ως η δομική μονάδα της ζωής. Μερικοί οργανισμοί, όπως τα βακτήρια, είναι μο-





νοκύτταροι, δηλαδή αποτελούνται από ένα μόνο κύτταρο. Άλλοι οργανισμοί, όπως οι άνθρωποι, είναι πολυκύτταροι. Οι άνθρωποι έχουν κατ' εκτίμηση 100 τρισεκατομμύρια κύτταρα. Το μέγεθος ενός χαρακτηριστικού κυττάρου είναι 10 μm και η μάζα του 1 ng.

Υπάρχουν δύο τύποι κυττάρων: τα προκαρυωτικά και τα ευκαρυωτικά. Τα προκαρυωτικά κύτταρα διαβιούν συνήθως ανεξάρτητα, ενώ τα ευκαρυωτικά κύτταρα συγκροτούν συχνά πολυκύτταρους οργανισμούς [1].

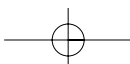
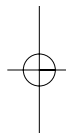
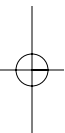
Προκαρυωτικά. Τα προκαρυωτικά κύτταρα είναι μονοκύτταροι οργανισμοί χωρίς πυρήνα και οργανίδια περιβαλλόμενα με μεμβράνη (Πίνακας 1). Ούτε το DNA τους, ούτε οποιαδήποτε άλλη περιοχή μεταβολικής δραστηριότητάς τους, συγκεντρώνεται σε μια ιδιαίτερη εσωκλειόμενη από μεμβράνη περιοχή. Αντιθέτως, όλα είναι προσιτά μέσα στο κύτταρο, κάποια ελεύθερα να επιπλεύσουν, ενώ κάποια άλλα δεσμεύονται στα τοιχώματα της μεμβράνης των κυττάρων. Είναι αυτή η έλλειψη οργανιδίων περιορισμένων από μεμβράνη που τα ξεχωρίζει από τους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, καθώς έχουν απλούστερη εσωτερική οργάνωση. Μερικά βακτήρια έχουν εσωτερικές μεμβράνες, που αποτελούν εγχολληώσεις της κυτταρικής μεμβράνης.

Το γενετικό υλικό των προκαρυωτικών κυττάρων είναι ένα δίκλωνο κυκλικό μόριο DNA, το οποίο περιέχει ένα αντίγραφο του γονιδιώματος (υπάρχουν και περιπτώσεις που περιέχουν πολλαπλά αντίγραφα του γονιδιώματος). Γι' αυτό το λόγο τα κύτταρα αυτά ονομάζονται απλοειδή. Σε πολλά βακτήρια, εκτός από αυτό το κύριο κυκλικό μόριο DNA, υπάρχουν δίκλωνα κυκλικά μόρια DNA, τα πλασμίδια. Κύρια χαρακτηριστικά των πλασμιδίων είναι ότι φέρουν μικρό ποσοστό της γενετικής πληροφορίας, αντιγράφονται ανεξάρτητα από το κύριο μόριο DNA και περιέχουν γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά και γονίδια που σχετίζονται με τη μεταφορά γενετικού υλικού από ένα βακτήριο σε άλλο. Τα προκαρυωτικά κύτταρα είναι πολύ μικρά, κατά προσέγγιση διαμέτρου 1-2 μm και μήκους 10 μm. Τα προκαρυωτικά κύτταρα απαντώνται σε τρεις βασικές μορφές: ράβδου, σφαίρας και σπείρας.

Ένα από τα βασικά χαρακτηριστικά των προκαρυωτικών κυττάρων είναι ότι αυτά είναι άφυλα. Στην αφυλετική αναπαραγωγή το κύτταρο ουσιαστικά αντιγράφει το DNA του και έπειτα διχοτομείται δημιουργώντας δύο θυγατρικά πανομοιότυπα κύτταρα. Το μικρό μέγεθος των προκαρυωτικών επιτρέπει μια υψηλή αναλογία επιφάνειας προς τον όγκο του κυττάρου, κάνοντας τη διάχυση επαρκές μέσο για τη διανομή των θρεπτικών ουσιών σε όλο το κύτταρο.

Ευκαρυωτικά. Έχουν μια πιο περίπλοκη εσωτερική δομή (Πίνακας 1). Είναι, όμως, σχεδόν βέβαιο, ότι τα ευκαρυωτικά κύτταρα εξελίχθηκαν από τα προκαρυωτικά. Αυτό βασίζεται στο γεγονός ότι αμφότερα συγκροτούνται από τα ίδια βιομόρια. Συγκεκριμένα, έχουν λιπίδια, ριβοσώματα, υδατάνθρακες, DNA, RNA και πρωτεΐνες. Χρησιμοποιούν το DNA ως το γενετικό υλικό τους και τα ίδια 20 αμινοξέα για την παραγωγή των πρωτεϊνών. Επιπλέον, έχουν την ίδια δομή κυτταρικής μεμβράνης, η οποία αποτελείται από δύο στίβες λιπιδίων.

Τα ευκαρυωτικά κύτταρα διακρίνονται από τα προκαρυωτικά από τη δομική τους πολυπλοκότητα και χαρακτηρίζονται από τον επιμερισμό πολλών λειτουργιών σε διαφορετικές περιοχές τους, τα ονομαζόμενα οργανίδια. Τα περισσότερα οργανίδια περιβάλλονται από μια ενιαία μεμβράνη φωσφολιπιδίων, ενώ υπάρχουν και άλλα, όπως ο πυρήνας, τα οποία εσωκλείονται σε δύο μεμβράνες. Κάθε τύπος οργανιδίου διαδραματίζει έναν μονα-



δικό ρόλο στην αύξηση και το μεταβολισμό του κυττάρου και ορισμένα περιέχουν μια συλλογή συγκεκριμένων ενζύμων που καταλύουν τις απαραίτητες βιοχημικές αντιδράσεις. Οι μεμβράνες που ορίζουν αυτά τα υποκυτταρικά διαμερίσματα ελέγχουν την εσωτερική σύνθεσή τους έτσι ώστε να διαφέρει συνήθως από αυτήν του διαλυτού κυτταροπλάσματος.

Ένα ευκαρυωτικό κύτταρο περιέχει συνήθως τα εξής οργανίδια: τον πυρήνα, όπου εντοπίζεται το μεγαλύτερο μέρος του κυτταρικού DNA, τα μιτοχόνδρια, που περιέχουν δικό τους DNA, το αδρό και λείο ενδοπλασματικό δίκτυο, το σύμπλεγμα Golgi, τα ριβοσώματα, που είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση πρωτεϊνών, τα υπεροξειδιοσώματα, τα λυσοσώματα, τα οποία περιέχονται στα ζωικά κύτταρα, αλλά όχι στα φυτικά, και τους χλωροπλάστες, οι οποίοι περιέχουν το δικό τους DNA και βρίσκονται μόνο σε ορισμένα φυτικά κύτταρα και σε μερικούς μονοκύτταρους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς [2].

Πίνακας 1: Διαφορές προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών κυττάρων

	Προκαρυωτικοί οργανισμοί	Ευκαρυωτικοί οργανισμοί
Τυπικοί οργανισμοί	βακτήρια, αρχαία	πρώτιστα, μύκητες, φυτά, ζώα
Τυπικό μέγεθος	~ 1-10 μm	~ 10-100 μm
Τύπος πυρήνα	έλλειψη πυρήνα	πυρήνας με διπλή μεμβράνη
DNA	κυκλικός βρόγχος + πλασμίδιο	γραμμικά μόρια (χρωμοσώματα)
Περιοχή σύνθεσης RNA	κυτταρόπλασμα	πυρήνας
Περιοχή σύνθεσης πρωτεϊνών	κυτταρόπλασμα	κυτταρόπλασμα
Δομή κυτταροπλάσματος	λίγες δομές	εσωτερικές μεμβράνες και κυτταροσκελετός
Μιτοχόνδρια	κανένα	τουλάχιστον ένα
Χλωροπλάστες	κανείς	φυτά
Οργανισμοί	συνήθως μονοκύτταροι	μονοκύτταροι, αποικίες και πολυκύτταροι
Διαίρεση κυττάρου	δικοτόμηση	μίτωση μείωση

Ένας ενήλικος οργανισμός αντικαθιστά τα φθαρμένα κύτταρα ή παράγει νέα όταν υπάρχει ανάγκη. Το γεγονός αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα, ότι η αύξηση και διαίρεση ενός κυττάρου είναι μια αυστηρά ρυθμιζόμενη λειτουργία του οργανισμού. Ο κυτταρικός κύκλος ή ο κύκλος διαίρεσης κυττάρου, περιλαμβάνει σειρά γεγονότων που πραγματοποιούνται σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο και οδηγούν στον διπλασιασμό του. Τόσο η αντικατάσταση φθαρμένων, όσο και η παραγωγή νέων κυττάρων πυροδοτεί ένα πρόγραμμα κυτταρικού διπλασιασμού που κωδικοποιείται στο DNA και εκτελείται από τις πρωτεΐνες. Αυτό το πρόγραμμα περιλαμβάνει συνήθως μια περίοδο κυτταρικής ανάπτυξης, κατά τη διάρκεια της οποίας παράγονται οι πρωτεΐνες και αντιγράφεται το DNA. Ακολουθεί η διαίρεση του κυττάρου, όπου ένα κύτταρο διαιρείται σε δύο θυγατρικά κύτταρα. Αυτά τα γεγονότα μπορούν να διακριθούν σε δύο ευρείες περιόδους:

1. Τη μεσόφαση: κατά τη διάρκειά της το κύτταρο αυξάνεται, συσσωρεύοντας τις θρεπτικές ουσίες που απαιτούνται για τη μίτωση και διπλασιάζοντας το DNA. Η μεσόφαση χωρίζεται σε τρεις φάσεις (την G1, την S και την G2) (Εικόνα 1), και
2. Τη μίτωση: κατά τη διάρκειά της το κύτταρο χωρίζεται σε δύο ευδιάκριτα κύτταρα, αποκαλούμενα συχνά «θυγατρικά κύτταρα» (φάση M) (Εικόνα 1).

Κάθε νέος κυτταρικός κύκλος αρχίζει αμέσως μετά τη διαίρεση του κυττάρου σε δύο θυγατρικά κύτταρα, κάθε ένα από τα οποία περιέχει ένα αντίγραφο του γενετικού υλικού του κυττάρου-γονέα. Η πρόοδος του κυτταρικού κύκλου ελέγχεται σε βασικά σημεία ελέγχου, τα οποία επιτηρούν την κατάσταση ενός κυττάρου. Για παράδειγμα, η ποσότητα του DNA ή η παρουσία εξωκυτταρικών θρεπτικών ουσιών αποτελούν παραμέτρους που λαμβάνονται υπόψη για να προχωρήσει ο κύκλος. Όταν ικανοποιούνται ορισμένες προϋποθέσεις, το κύτταρο προχωρά στο επόμενο σημείο ελέγχου.

Ο κυτταρικός κύκλος ξεκινά από τη σχετικά σύντομη φάση M, κατά την οποία διχοτομείται το κύτταρο-γονέα. Το κεντρικό πρόβλημα για ένα κύτταρο στη φάση M είναι πώς να χωρίσει ακριβώς και να διανείμει το γενετικό του υλικό έτσι, ώστε κάθε νέο θυγατρικό κύτταρο να λάβει ένα πανομοιότυπο αντίγραφο του γονιδιώματος. Με μικρές παραλλαγές, όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα λύνουν αυτό το πρόβλημα με παρόμοιο τρόπο: επιστρατεύουν εξειδικευμένους κυτταροσκελετικούς μηχανισμούς, σε πρώτη φάση για να διαχωρίσουν τα διπλασιασμένα μόρια γενετικού υλικού με τη μορφή χρωμοσωμάτων και έπειτα για να χωρίσουν το κυτταρόπλασμα σε δύο μέρη.

Μετά από τη φάση M, κάθε ένα από τα θυγατρικά κύτταρα αρχίζει την ενδιάμεση φάση ενός νέου κύκλου, τη μεσόφαση. Τα διάφορα στάδια της μεσόφασης δεν είναι συνήθως διακριτά μορφολογικά.

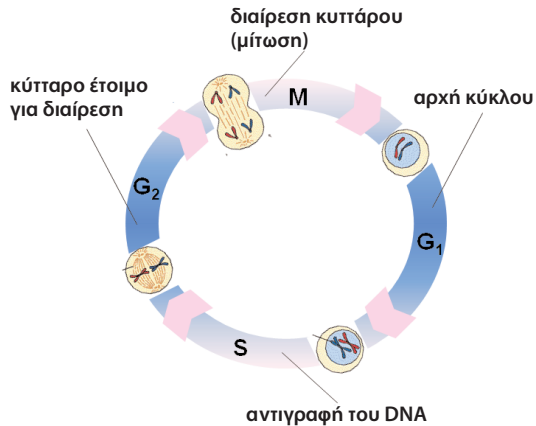
Η πρώτη φάση της μεσόφασης, η φάση G1, διαρκεί από το τέλος της προηγούμενης φάσης M μέχρι την έναρξη της σύνθεσης του DNA. Αυτή η φάση χαρακτηρίζεται από τη σύνθεση διαφόρων ενζύμων που είναι απαραίτητα για την επόμενη φάση, και κυρίως εκείνων που απαιτούνται για την αντιγραφή του DNA. Η διάρκεια της G1 είναι ιδιαίτερα μεταβλητή, ακόμη και μεταξύ διαφορετικών κυττάρων του ίδιου είδους.

Η φάση S ξεκινάει, όταν αρχίζει η σύνθεση του DNA και ολοκληρώνεται όταν όλο το DNA έχει διπλασιαστεί. Τα ποσοστά μεταγραφής του RNA και της πρωτεϊνικής σύνθεσης είναι πολύ χαμηλά κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης. Η διάρκεια της φάσης S είναι σχετικά σταθερή μεταξύ των κυττάρων του ίδιου είδους.

Τέλος, η φάση G2 ξεκινάει με την ολοκλήρωση της φάσης S και διαρκεί μέχρι να εισέλθει το κύτταρο στην επόμενη φάση, δηλαδή τη μίτωση. Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης εμφανίζεται σημαντική πρωτεϊνική σύνθεση, περιλαμβάνοντας κυρίως την παραγωγή των μικροσωληνίσκων, οι οποίοι απαιτούνται κατά τη διάρκεια της μίτωσης για το διαχωρισμό των αδελφών χρωματίδων κάθε χρωμοσώματος. Αξίζει να σημειωθεί, ότι ακόμη τα χρωμοσώματα δεν μπορούν να γίνουν ορατά ως μεμονωμένες δομές, γιατί η χρωματίνη που τα συνιστά δεν έχει ακόμη συμπυκνωθεί στο μέγιστο βαθμό.

Ανεξέλεγκτη αύξηση και πολλαπλασιασμός των κυττάρων μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή ενός όγκου. Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος διαδραματίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο στον πληθυσμιακό έλεγχο με την εξισορρόπηση της αύξησης του αριθμού των κυττάρων. Επιπλέον, με τον κυτταρικό θάνατο απομακρύνονται τα περιττά κύτταρα.

Ο κυτταρικός θάνατος ακολουθεί μια ενδοκυτάρια αλληλουχία γεγονότων, αποκαλούμενη απόπτωση. Το πρώτο ορατό σημάδι της απόπτωσης είναι η συμπύκνωση του πυρήνα και ο κατακερματισμός του DNA. Το κύτταρο σύντομα συρρικνώνεται και φαγοκυτταρώνεται από ένα είδος κυττάρων, τα μακροφάγα. Ένα κύτταρο οδηγείται σε απόπτωση, όταν ένας απαραίτητος παράγοντας απομακρύνεται από το εξωκυττάριο περιβάλλον ή όταν ενεργοποιείται ένα εσωτερικό σήμα [3].



Εικόνα 1: Κύκλος ζωής κυττάρου. Στα περισσότερα αναπτυσσόμενα κύτταρα, οι τέσσερις φάσεις προχωρούν διαδοχικά, με διάρκεια 10 – 20 ωρών, ανάλογα με τον τύπο των κυττάρων. Η μεσόφαση είναι αυτή που διαρκεί περισσότερο, αντιπροσωπεύοντας το 90-95% της διάρκειας του κυτταρικού κύκλου. (Παρόλο που πριν τη μίτωση τα χρωμοσώματα δεν είναι ορατά, στο σχήμα το γενετικό υλικό απεικονίζεται με τη μορφή χρωμοσωμάτων, ώστε να απεικονισθεί σχηματικά η λειτουργία που επιτελείται σε κάθε στάδιο του κυτταρικού κύκλου).

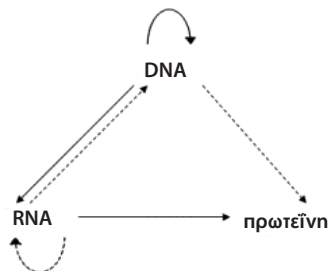
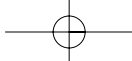
Το κεντρικό δόγμα της Βιολογίας

Το κεντρικό δόγμα της μοριακής βιολογίας (που περιλαμβάνει την αντιγραφή, τη μεταγραφή, και τη μετάφραση) είναι ένα πλαίσιο, στο οποίο συμπυκνώνεται η γνώση μας σχετικά με τη μεταφορά της πληροφορίας μεταξύ βιοπολυμερών στους ζωντανούς οργανισμούς. Υπάρχουν τρεις σημαντικές κατηγορίες τέτοιων βιοπολυμερών: τα νουκλεϊκά οξέα –DNA και RNA– και οι πρωτεΐνες. Υπάρχουν 9 (3x3) κατανοητές άμεσες μεταφορές πληροφορίας που μπορούν να εμφανιστούν μεταξύ αυτών. Οι μεταφορές αυτές χωρίζονται σε δύο κατηγορίες (Εικόνα 2):

1. Γενικές μεταφορές: θεωρούνται ότι λαμβάνουν χώρα κανονικά στα περισσότερα κύτταρα.

2. Ειδικές μεταφορές: είναι γνωστό ότι εμφανίζονται, αλλά μόνο υπό ειδικούς όρους.

Οι γενικές μεταφορές περιγράφουν την κανονική ροή της βιολογικής πληροφορίας: το DNA μπορεί να αντιγραφεί παράγοντας νέα μόρια DNA (αντιγραφή DNA), η πληροφορία του DNA μπορεί να μεταγραφεί σε RNA (μεταγραφή) και οι πρωτεΐνες μπορούν να συντεθούν χρησιμοποιώντας την πληροφορία του mRNA ως πρότυπο (μετάφραση) [4].

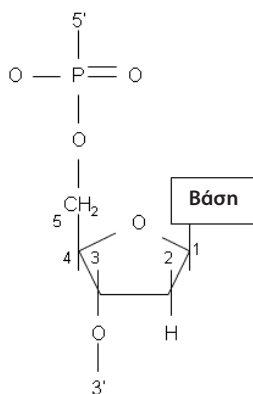


Εικόνα 2: Κεντρικό δόγμα της βιολογίας. Οι συνεχόμενες γραμμές αντιπροσωπεύουν τις γενικές μεταφορές, ενώ οι διακεκομμένες αντιπροσωπεύουν τις ειδικές μεταφορές.

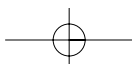
Τα βιοπολυμερή είναι βιολογικά πολυμερή, δηλαδή μόρια αποτελούμενα από δομικές μονάδες γνωστές ως μονομερή. Τα βιοπολυμερή DNA, RNA και πρωτεΐνες είναι γραμμικά πολυμερή μόρια, αποτελούμενα από συνδεόμενα μονομερή. Η ακολουθία τους κωδικοποιεί αποτελεσματικά την πληροφορία. Οι μεταφορές της πληροφορίας που περιγράφονται από το κεντρικό δόγμα είναι πιστές, αιτιοκρατικές μεταφορές, όπου ένα βιοπολυμερές χρησιμοποιείται ως πρότυπο για την κατασκευή ενός άλλου βιοπολυμερούς, η ακολουθία του οποίου εξαρτάται εξ ολοκλήρου από το αρχικό βιοπολυμερές.

DNA – Αντιγραφή

Το DNA, είναι ένα δίκλωνο μόριο όπου κάθε κλώνος (αλυσίδα) είναι ένα μακρύ πολυμερές που αποτελείται από νουκλεοτίδια. Κάθε νουκλεοτίδιο αποτελείται από ένα φωσφορικό οξύ, μία πεντόζη, δηλαδή ένα σάκχαρο με πέντε άτομα άνθρακα, τη λεγόμενη δεσοξυριβόζη και μία αζωτούχο βάση (Εικόνα 3). Σε κάθε νουκλεοτίδιο η αζωτούχος βάση συνδέεται με τον 1' άνθρακα της δεσοξυριβόζης και η φωσφορική ομάδα με τον 5' άνθρακα. Οι σταθερές ομάδες των νουκλεοτιδίων, δηλαδή το φωσφορικό οξύ και η δεσοξυριβόζη, αποτελούν το εξωτερικό υδρόφιλο τμήμα του DNA, ενώ οι αζωτούχες βάσεις διατάσσονται κατά ζεύγη στο εσωτερικό υδρόφοβο μέρος του μορίου.



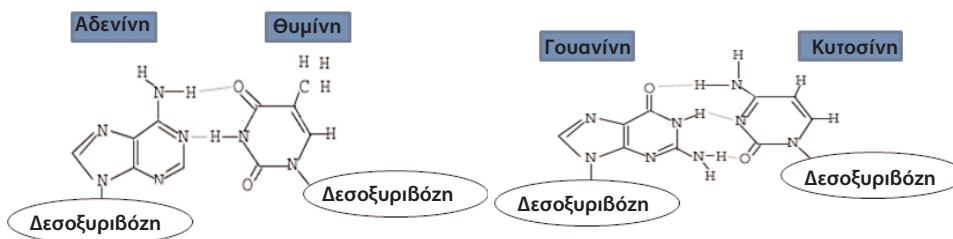
Εικόνα 3: Χημική δομή δεσοξυριβονουκλεοτιδίου.



Για τη δημιουργία ενός πολυνουκλεοτιδίου είναι απαραίτητη η ένωση με ομοιοπολικό δεσμό (φωσφοδιεστερικό) δύο ή περισσότερων νουκλεοτιδίων. Μεταξύ δύο νουκλεοτιδίων ο ομοιοπολικός δεσμός 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 δεύτερου νουκλεοτιδίου. Ο δεσμός αυτός ονομάζεται 3'→5' φωσφοδιεστερικός δεσμός.

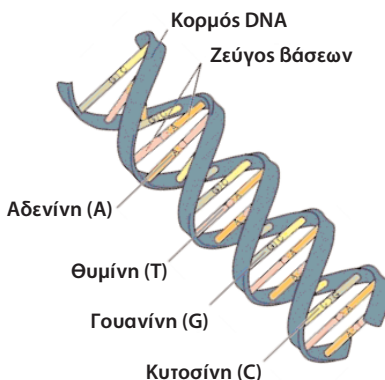
Όπως γίνεται αντιληπτό, σε μια πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα το πρώτο νουκλεοτίδιο έχει ελεύθερο το υδροξύλιο του 5' άνθρακα, όπου φέρει το φωσφορικό οξύ, αντίθετα με το τελευταίο νουκλεοτίδιο που έχει ελεύθερο το υδροξύλιο του 3' άνθρακα. Επομένως, η αλυσίδα έχει 5'→3' προσανατολισμό. Οι δύο κλώνοι στη διπλή έλικα του DNA βρίσκονται αντιπαράλληλα διατεταγμένοι ο ένας στον άλλο, δηλαδή το 5' άκρο του ενός βρίσκεται απέναντι από το 3' άκρο του άλλου. Ένας από τους κλώνους του DNA χτίζεται στην 5'→3' κατεύθυνση, ενώ ο άλλος σε μια αντιπαράλληλη κατεύθυνση.

Υπάρχουν τέσσερις διαφορετικοί τύποι νουκλεοτιδίων ανάλογα με τη βάση που περιέχουν. Η βάση του νουκλεοτιδίου μπορεί να είναι: αδενίνη (A), γουανίνη (G), κυτοσίνη (C) ή θυμίνη (T). Οι βάσεις των δύο κλώνων που αποτελούν το μόριο του DNA, δημιουργούν ζευγάρια βάσεων διαμορφώνοντας δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους. Ζευγάρια δημιουργούνται μεταξύ αδενίνης – θυμίνης και κυτοσίνης – γουανίνης, γεγονός που εξηγείται από τον κανόνα της συμπληρωματικότητας των βάσεων. Έχουμε τρεις αλληλεπιδράσεις δεσμών υδρογόνου μεταξύ της κυτοσίνης και της γουανίνης, που εκφράζονται συχνά με C:::G, έναντι δύο αλληλεπιδράσεων δεσμών υδρογόνου μεταξύ της αδενίνης και της θυμίνης, που εκφράζονται αντίστοιχα με A::T (Εικόνα 4).



Εικόνα 4: Χημική δομή βάσεων. Σημειώνονται οι ομοιοπολικοί δεσμοί που δημιουργούνται ανάμεσα στις βάσεις.

Επομένως, οι δυο κλώνοι του DNA είναι συμπληρωματικοί και διαμορφώνουν μια διπλή δεξιόστροφη έλικα (Εικόνα 5). Η συμπληρωματικότητα έχει μεγάλη σημασία για την αντιγραφή του DNA, μια ιδιότητα που το καθιστά το καταλληλότερο μόριο για τη διατήρηση και τη μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας.



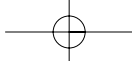
Εικόνα 5: Δίκλωνο μόριο DNA. Το DNA είναι ένα δίκλωνο, γραμμικό μόριο και αποτελείται από νουκλεοτίδια. Κάθε κλώνος είναι συμπληρωματικός του άλλου.

Η πρώτη από τις γενικές μεταφορές αφορά την αντιγραφή του DNA, η οποία είναι ο πολύ σημαντικός μηχανισμός που παρέχει γενετικό υλικό στα νέα κύτταρα, τα οποία δημιουργούνται κατά την κυτταρική διαίρεση. Η αντιγραφή του DNA πρέπει να συμβεί πριν τη διαίρεση του κυττάρου. Τα προκαρυωτικά κύτταρα μπορούν να αντιγράψουν το DNA τους σε όλο το διάστημα μεταξύ των διαιρέσεων του κυττάρου, σε αντίθεση με τα ευκαρυωτικά κύτταρα, όπου, όπως είδαμε, τα στάδια του κυτταρικού κύκλου είναι προκαθορισμένα.

Τα βήματα της αντιγραφής του DNA στα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι τα ακόλουθα. Το πρώτο σημαντικό βήμα περιλαμβάνει δύο στάδια. Το πρώτο στάδιο αφορά το σπάσιμο των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των βάσεων των δύο αντιπαράλληλων κλώνων. Ο διαχωρισμός λαμβάνει χώρα σε σημεία των δύο αλυσίδων, τα οποία είναι πλούσια σε ζεύγη A-T και τα οποία αποκαλούνται θέσεις έναρξης της αντιγραφής. Αυτό συμβαίνει, επειδή, όπως αναφέρθηκε, υπάρχουν μόνο δύο δεσμοί υδρογόνου μεταξύ της αδενίνης και της θυμίνης, ενώ τρεις δεσμοί υδρογόνου μεταξύ της κυτοσίνης και της γουανίνης. Το ένζυμο που επιτελεί το διαχωρισμό των δύο κλώνων καλείται DNA ελικάση. Υπάρχουν εκατοντάδες θέσεις έναρξης σε όλο το μήκος του DNA των ευκαρυωτικών κυττάρων, σε αντίθεση με το DNA των προκαρυωτικών που έχει μόνο μία.

Το δεύτερο στάδιο περιλαμβάνει το σχηματισμό του συμπλόκου έναρξης της αντιγραφής. Αυτή η διαδικασία αρχίζει με τη σύνδεση της RNA πριμάσης στη θέση έναρξης. Η RNA πριμάση μπορεί να προσελκύσει νουκλεοτίδια RNA που προσδένονται στα νουκλεοτίδια DNA λόγω των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των βάσεων. Τα ολιγονουκλεοτίδια RNA είναι τα εναρκτήρια μόρια για τη σύνδεση των νουκλεοτιδίων DNA και αποκαλούνται πρωταρχικά τμήματα RNA.

Μόλις ολοκληρωθεί αυτή η διαδικασία, η ακολουθία βάσεων σε κάθε έναν από τους διαχωρισμένους κλώνους μπορεί να χρησιμεύσει ως πρότυπο, για να καθοδηγήσει την εισαγωγή ενός συμπληρωματικού συνόλου βάσεων στον κλώνο που συντίθεται. Τα νουκλεοτίδια συγκεντρώνονται με βάση την ακολουθία των βάσεων στον κλώνο που χρησιμεύει ως πρότυπο. Τα κύρια ένζυμα που συμμετέχουν στην αντιγραφή του DNA είναι οι DNA πολυμεράσες, που επιμπνύνουν τα πρωταρχικά τμήματα, τοποθετώντας συμπληρωματικά νουκλεοτί-



δια απέναντι από τις αλυσίδες-καλούπια του αντιγραφόμενου DNA. Οι DNA πολυμεράσες λειτουργούν μόνο προς μία κατεύθυνση και τοποθετούν τα νουκλεοτίδια στο ελεύθερο 3' άκρο της δεσοξυριβόζης του τελευταίου νουκλεοτιδίου κάθε δημιουργούμενης αλυσίδας. Επομένως, η αντιγραφή γίνεται με 5'→3' προσανατολισμό.

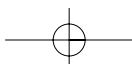
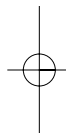
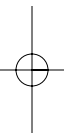
Λόγω αυτού, η διαδικασία επιμήκυνσης είναι διαφορετική για τις αλυσίδες με προσανατολισμό 3'→5' και 5'→3'.

- Αλυσίδα 3'→5': ο παραγόμενος 5'→3' θυγατρικός κλώνος, που χρησιμοποιεί ως πρότυπο τον κλώνο 3'→5', καλείται προπορευόμενος κλώνος, επειδή η DNA πολυμεράση μπορεί να διαβάζει το πρότυπο και να προσθέτει συνεχώς νουκλεοτίδια.
- Αλυσίδα 5'→3': το πρότυπο 5'→3' δεν μπορεί να διαβαστεί από την DNA πολυμεράση. Το πρόβλημα επιλύεται συνθέτοντας την αλυσίδα ως σειρά μικρών τμημάτων, καθένα από τα οποία στην πραγματικότητα συντίθεται με κατεύθυνση 5'→3'. Η πολυπλοκότητα της αντιγραφής αυτού του προτύπου είναι σχετικά μεγάλη και ο νέος κλώνος καλείται καθυστερημένος κλώνος. Στον καθυστερημένο κλώνο, η RNA πριμάση προσθέτει περισσότερα εναρκτήρια μόρια RNA. Το κενό μεταξύ δύο εναρκτήριων μορίων RNA καλείται «τεμάχιο Οκαζάκι». Η DNA πολυμεράση διαβάζει το πρότυπο-καλούπι και επιμηκύνει τα πρωταρχικά τμήματα RNA. Όταν ολοκληρωθεί η σύνθεση ενός τμήματος Οκαζάκι, ξεκινά η σύνθεση του επόμενου σε μια νέα θέση. Στον καθυστερημένο κλώνο η DNA πολυμεράση διαβάζει τα τεμάχια και αφαιρεί τα εναρκτήρια μόρια RNA. Τέλος, η DNA δεσμάση συνδέει τα τμήματα Οκαζάκι δημιουργώντας το δεσμό που συνδέει το 3' άκρο ενός τμήματος Οκαζάκι με το 5' άκρο του επόμενου.

Τα πρωταρχικά τμήματα RNA αντικαθίστανται με τη βοήθεια της DNA πολυμεράσης I (ένζυμο διαφορετικό από αυτό που επιτελεί τη σύνθεση της πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας) από τμήματα DNA, συμπληρωματικά προς την αντιγραφόμενη ακολουθία.

Το τελευταίο βήμα της αντιγραφής του DNA είναι ο τερματισμός, ο οποίος λαμβάνει χώρα όταν η DNA πολυμεράση φθάνει στο τέλος των κλώνων. Στο τελευταίο τμήμα του καθυστερούμενου κλώνου, όταν αφαιρείται το εναρκτήριο μόριο RNA, δεν είναι δυνατό για την DNA πολυμεράση να σφραγίσει το κενό, επειδή δεν υπάρχει κανένα εναρκτήριο μόριο να ακολουθεί. Επομένως, το τέλος του γονέα-κλώνου, όπου προσδένεται το τελευταίο εναρκτήριο μόριο, δεν αντιγράφεται. Αυτές οι άκρες του γραμμικού χρωμοσωμικού DNA αποτελούνται από DNA που περιέχει επαναλαμβανόμενες ακολουθίες και καλούνται τελομερή. Κατά συνέπεια, ένα μέρος του τελομερούς αφαιρείται σε κάθε κύκλο της αντιγραφής του DNA. Η αντιγραφή του DNA δεν ολοκληρώνεται ώσπου ένας μηχανισμός επιδιόρθωσης επιδιορθώσει πιθανά λάθη που προκλήθηκαν κατά τη διάρκεια της αντιγραφής. Ένζυμα, όπως οι νουκλεάσες, αφαιρούν τα λανθασμένα νουκλεοτίδια και η DNA πολυμεράση καλύπτει τα κενά.

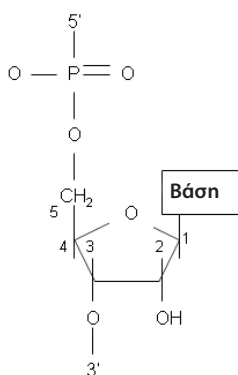
Ο διαχωρισμός των δύο κλώνων του DNA και η χρήση και των δύο, ως εκμαγείο για την αντιγραφή του DNA, οδηγεί στη δημιουργία δύο νέων διπλών αλυσίδων που φέρουν την ίδια πληροφορία με την αρχική. Συνεπώς, δημιουργούνται δύο αλυσίδες DNA, κάθε μία από τις οποίες αποτελείται από μια παλαιά και μια νέα αλυσίδα. Αυτό καλείται ημισυντηρητικός μηχανισμός αντιγραφής. Επίσης, παρόμοιες διαδικασίες λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια των βημάτων της αντιγραφής του DNA των προκαρυωτικών κυττάρων, αν και υπάρχουν μερικές διαφορές [3].



RNA – Μεταγραφή

Η γενετική πληροφορία, όμως, εκτός του DNA κωδικοποιείται και σ' ένα ακόμη βιοπολυμερές, το RNA. Η χημική δομή των δύο αυτών μορίων δεν παρουσιάζει μεγάλες διαφορές. Το RNA είναι ένα γραμμικό πολυμερές αποτελούμενο από τέσσερις διαφορετικούς τύπους νουκλεοτιδίων που συνδέονται μεταξύ τους με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς. Διαφέρει από το DNA, διότι τα νουκλεοτίδια στο RNA είναι ριβονουκλεοτίδια (Εικόνα 6), δηλαδή περιέχουν ριβόζη, αντί για δεσοξυριβόζη. Επιπλέον, το RNA περιέχει τις βάσεις αδενίνη (A), γουανίνη (G) και κυτοσίνη (C), αλλά και την ουρακίλη (U) αντί της θυμίνης (T) που περιέχεται στο DNA. Εδώ, τα ζεύγη βάσεων αποτελούνται από την αδενίνη με την ουρακίλη, καθώς και τη γουανίνη με την κυτοσίνη.

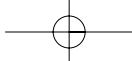
Παρά τις μικρές χημικές διαφορές, το DNA και το RNA διαφέρουν εντυπωσιακά στη γενική δομή. Το DNA εμφανίζεται πάντα στα κύτταρα ως δίκλωνο μόριο, σε αντίθεση με το RNA που είναι μονόκλωνο.



Εικόνα 6: Χημική δομή ριβονουκλεοτιδίου.

Η διαδικασία μεταφοράς της γενετικής πληροφορίας από το DNA στο RNA καλείται μεταγραφή και περιλαμβάνει τη χρήση ενός συγκεκριμένου τμήματος DNA, του γονιδίου, ως καλούπι για να συντεθεί μια συμπληρωματική αλληλουχία RNA. Αν και διαφέρουν στη χημική τους δομή, οι πληροφορίες στο DNA και στο RNA γράφονται ουσιαστικά στην ίδια γλώσσα, τη γλώσσα μιας νουκλεοτιδικής ακολουθίας. Η διαδικασία της μεταγραφής αποτελεί το πρώτο βήμα για την έκφραση της γενετικής πληροφορίας που ενυπάρχει στα γονίδια. Η μεταγραφή χωρίζεται σε τρία στάδια: την έναρξη, την επιμήκυνση και τον τερματισμό. Για την έναρξή της, είναι απαραίτητο το ξετύλιγμα μιας μικρής περιοχής της διπλής έλικας του DNA, ώστε να εκτεθούν οι βάσεις κάθε κλώνου του DNA. Ένας από τους δύο κλώνους της διπλής έλικας του DNA ακολούθως χρησιμοποιείται ως πρότυπο για τη σύνθεση ενός μορίου RNA. Η νουκλεοτιδική ακολουθία της αλυσίδας RNA καθορίζεται από τη συμπληρωματική ένωση μεταξύ των εισερχόμενων ριβονουκλεοτιδίων και του DNA-πρότυπου. Τα ένζυμα που εκτελούν τη μεταγραφή καλούνται RNA πολυμεράσες.

- **Έναρξη:** περιλαμβάνει την πρόσδεση της RNA πολυμεράσης σε ειδικές αλληλουχίες του DNA, τους υποκινητές. Οι υποκινητές γειτνιάζουν με το γονίδιο. Η μεταγραφή γίνεται πάντα με κατεύθυνση 5' → 3'. Επιπλέον, δεν είναι απαραίτητη η σύνθεση πρωταρχικών τμημάτων RNA, καθώς η RNA πολυμεράση μπορεί να συνθέσει εξ αρχής ένα μόριο RNA.

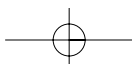


- **Επιμήκυνση:** όταν πραγματοποιηθεί η αντιστοιχία, το εισερχόμενο ριβονουκλεοτίδιο συνδέεται ομοιοπολικά με την ανεπτυγμένη RNA αλυσίδα σε μια ενζυματικά καταλύσιμη αντίδραση. Οι RNA πολυμεράσες καταλύουν το σχηματισμό των φωσφοδιεστερικών δεσμών που συνδέουν τα νουκλεοτίδια, ώστε να διαμορφώσουν μια γραμμική αλυσίδα με προσανατολισμό 5'→3'. Η αλυσίδα RNA που παράγεται από τη μεταγραφή –το αντίγραφο– είναι επομένως επιμηκυμένη κατά ένα νουκλεοτίδιο τη φορά. Η RNA πολυμεράση κινείται σταδιακά κατά μήκος του DNA, ξετυλίγοντας την έλικα του DNA ακριβώς μπροστά από την ενεργό περιοχή για πολυμερισμό, ώστε να εκθέσει μια νέα περιοχή του κλώνου-προτύπου για τη συμπληρωματική ένωση των βάσεων.
- **Τερματισμός:** ο τερματισμός της μεταγραφής επιτυγχάνεται, όταν η RNA πολυμεράση αναγνωρίσει ειδικές αλληλουχίες DNA, τις θέσεις λήξης. Στις θέσεις αυτές αποσταθεροποιείται η ένωση μεταξύ του DNA και της RNA πολυμεράσης με αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της συνέχισης της μεταγραφής.

Ακριβώς πίσω από την περιοχή, όπου προστίθενται ριβονουκλεοτίδια, η αλυσίδα RNA μετατοπίζεται και η έλικα DNA «ξανακλείνει». Κατά συνέπεια, τα μόρια RNA που παράγονται από τη μεταγραφή απελευθερώνονται από το πρότυπο DNA. Η σχεδόν άμεση απελευθέρωση του κλώνου RNA από το DNA σημαίνει, ότι πολλά κύρια RNA μπορούν να συντεθούν από το ίδιο γονίδιο σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα, με τη σύνθεση των νέων μορίων RNA να αρχίζει προτού ολοκληρωθεί το πρώτο RNA. Επομένως, η μεταγραφή μπορεί να περιέχει πολλαπλές RNA πολυμεράσες, τόσες όσα και τα μόρια RNA που μπορούν να παραχθούν από ένα μόνο αντίγραφο του γονιδίου. Στα βακτήρια, τα μόρια RNA που παράγονται είναι τελείως ώριμα να εμπλακούν στο επόμενο στάδιο της γονιδιακής έκφρασης, τη μετάφραση. Αντίθετα, στα ευκαρυωτικά κύτταρα τα αρχικά προϊόντα της μεταγραφής του DNA δεν είναι συνήθως λειτουργικά και χρειάζεται να υποστούν τροποποιήσεις προτού χρησιμοποιηθούν.

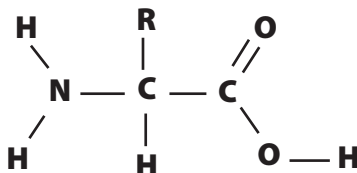
Όλο το RNA σε ένα κύτταρο παράγεται από τη μεταγραφή του DNA. Τα κύτταρα παράγουν διάφορους τύπους RNA, όπως mRNA, snRNA, rRNA και tRNA. Η αλληλουχία των γονιδίων του DNA ενός κυττάρου κωδικοποιούν τις ακολουθίες των αμινοξέων των πρωτεϊνών. Τα μόρια RNA που μεταγράφονται από τα γονίδια και που κατευθύνουν τελικά τη σύνθεση των πρωτεϊνών καλούνται μόρια αγγελιοφόρου RNA (mRNA). Το τελικό προϊόν ορισμένων γονιδίων, εντούτοις, είναι το ίδιο το RNA. Αυτά τα RNA χρησιμεύουν ως ενζυματικά και δομικά συστατικά για ποικίλες διαδικασίες στο κύτταρο ή ακόμη και για τη διενέργεια της ίδιας της διαδικασίας της μετάφρασης. Αν και δεν είναι γνωστές όλες τους οι λειτουργίες, γνωρίζουμε, ότι μερικά μικρά πυρηνικά μόρια RNA (snRNA) κατευθύνουν στον πυρήνα την ωρίμανση του πρόδρομου mRNA (pre-mRNA), ώστε αυτό να διαμορφώσει το ώριμο mRNA που θα μετατεθεί στο κυτταρόπλασμα, προκειμένου να μεταφραστεί. Επίσης, όπου γίνεται η παραγωγή πρωτεϊνών, ριβοσωμικά μόρια RNA (rRNA) συγκροτούν μαζί με πρωτεΐνες τα ριβοσώματα και μεταφορικά μόρια RNA (tRNA) αποτελούν τους προσαγωγείς που επιλέγουν τα αμινοξέα και τα προσάγουν σ' ένα ριβόσωμα για να ενσωματωθούν στις παραγόμενες πρωτεΐνες.

Τέλος, η ευκαρυωτική μεταγραφή εντοπίζεται κυρίως στον πυρήνα, σε αντίθεση με την προκαρυωτική μεταγραφή που λαμβάνει χώρα στο κυτταρόπλασμα [5].



Πρωτεΐνες – Μετάφραση

Οι πρωτεΐνες είναι μεγάλα σύνθετα οργανικά μόρια, αποτελούμενα από αμινοξέα (Εικόνα 7), τα οποία ενώνονται μεταξύ τους με πεπτιδικούς δεσμούς σχηματίζοντας μια αλυσίδα, καλούμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα. Η διαδικασία της πρωτεϊνικής βιοσύνθεσης, η οποία αποτελεί το επόμενο στάδιο της διαδικασίας έκφρασης των γονιδίων, καλείται μετάφραση.



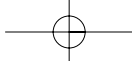
Εικόνα 7: Χημική δομή αμινοξέος. Το R αντιπροσωπεύει το τμήμα που διαφοροποιείται ανάμεσα στα 20 υπάρχοντα αμινοξέα.

Η μετάφραση λαμβάνει χώρα στο κυτταρόπλασμα, όπου βρίσκονται τα ριβοσώματα. Τα ριβοσώματα αποτελούνται από μια μικρή και μια μεγάλη υπομονάδα που περιβάλλει το mRNA. Στη μετάφραση το mRNA αποκωδικοποιείται για να παράγει συγκεκριμένο πολυπεπτιδίο, σύμφωνα με τους κανόνες του γενετικού κώδικα. Επομένως, η ενσωμάτωση αμινοξέων σε πολυπεπτιδικές αλυσίδες γίνεται με τρόπο κατευθυνόμενο από την ακολουθία του mRNA που «διαβάζεται» από το ριβόσωμα.

Η μετατροπή των πληροφοριών από το RNA στην πρωτεΐνη αντιπροσωπεύει μια μετάφραση των πληροφοριών σε μια άλλη γλώσσα που χρησιμοποιεί αρκετά διαφορετικά σύμβολα. Επιπλέον, δεδομένου ότι υπάρχουν μόνο τέσσερα διαφορετικά νουκλεοτίδια στο mRNA και είκοσι διαφορετικοί τύποι αμινοξέων σε μια πρωτεΐνη, η μετάφραση δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω μιας άμεσης, ένα προς ένα, αντιστοιχίας μεταξύ ενός νουκλεοτιδίου στο RNA και ενός αμινοξέος στην πρωτεΐνη. Αντιθέτως, για να υπάρξει αντιστοιχία ανάμεσα στα νουκλεοτίδια και τα αμινοξέα, θα πρέπει αυτά να διαβάζονται σε ομάδες των τριών. Η αντιστοίχιση τριάδων (τριπλετών-κωδικονίων) του mRNA προς συγκεκριμένα αμινοξέα ονομάζεται γενετικός κώδικας.

Όλοι οι διαθέσιμοι συνδυασμοί τριπλετών είναι $4^3=64$, αριθμός που υπερκαλύπτει το διαθέσιμο αριθμό αμινοξέων. Αναλυτικότερα, από τις 64 τριπλέτες μόνο οι 61 κωδικοποιούν κάποιο αμινοξύ και περισσότερες από μία κωδικοποιούν το ίδιο αμινοξύ. Τα κωδικόνια αυτά λέγονται συνώνυμα και ο κώδικας αποκαλείται εκφυλισμένος, λόγω αυτής της ιδιότητας. Άλλες ιδιότητες του κώδικα είναι ότι είναι συνεχής, δηλαδή το mRNA διαβάζεται συνεχόμενα χωρίς να παραλείπει κάποιο νουκλεοτίδιο, μη επικαλυπτόμενος, δηλαδή κάθε νουκλεοτίδιο ανήκει σε ένα μόνο κωδικόνιο, και σχεδόν καθολικός, δηλαδή σε όλους σχεδόν τους οργανισμούς ο γενετικός κώδικας είναι ο ίδιος.

Επιπλέον, η διαδικασία αυτή χαρακτηρίζεται από την ακρίβεια των θέσεων έναρξης και λήξης της. Έχει σημασία ποια θα είναι η πρώτη τριπλέτα από την οποία θα αρχίσει η μετάφραση, διότι από αυτή καθορίζεται και το πλαίσιο ανάγνωσης, το οποίο περιέχει τα νουκλεοτίδια που θα διαβαστούν για την παραγωγή της πρωτεΐνης και το οποίο είναι μοναδικό.

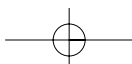
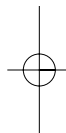
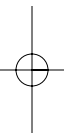


Στη μετάφραση, εκτός από τα ριβοσώματα, παίρνουν μέρος και μόρια μεταφορικού RNA (tRNA). Κάθε μόριο tRNA έχει μια ειδική τριπλέτα νουκλεοτιδίων, το αντικωδικόνιο, που προσδένεται λόγω συμπληρωματικότητας με το αντίστοιχο κωδικόνιο του mRNA. Επιπλέον, διαθέτει μια ειδική θέση σύνδεσης μ' ένα συγκεκριμένο αμινοξύ. Καθ' όλη τη διάρκεια της μετάφρασης λαμβάνει χώρα η ενεργοποίηση, που περιλαμβάνει τη σύνδεση του κατάλληλου αμινοξέος σ' ένα tRNA. Παρόλο που τεχνικά η ενεργοποίηση δεν αποτελεί ένα βήμα της μετάφρασης, είναι απαραίτητη ώστε αυτή να προχωρήσει. Η μετάφραση περιλαμβάνει τρεις φάσεις: έναρξη, επιμήκυνση και τερματισμό (λήξη).

- **Έναρξη:** περιλαμβάνει την πρόσδεση της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος στο 5' άκρο του mRNA με τη βοήθεια παραγόντων έναρξης της μετάφρασης. Οι παράγοντες είναι πρωτεΐνες που βοηθούν στην έναρξη της διαδικασίας. Υπάρχει ένα ειδικό μοναδικό κωδικόνιο έναρξης στο mRNA, το AUG που αντιστοιχεί στο αμινοξύ μεθειονίνη, το οποίο στην αρχή κάθε μηνύματος RNA οριοθετεί το πλαίσιο ανάγνωσης, υποδηλώνοντας τη θέση έναρξης της μετάφρασης. Με αυτό τον τρόπο, μεταφράζεται το mRNA κατά ένα και μοναδικό τρόπο.
- **Επιμήκυνση:** λαμβάνει χώρα όταν το επόμενο tRNA, στο οποίο έχει συνδεθεί το αμινοξύ που κωδικοποιεί το δεύτερο κωδικόνιο του mRNA, προσδένεται στην κατάλληλη υποδοχή του ριβοσώματος μαζί με έναν παράγοντα επιμήκυνσης. Τότε, μεταξύ της μεθειονίνης και του δεύτερου αμινοξέος δημιουργείται πεπτιδικός δεσμός και στη συνέχεια, το tRNA που μετέφερε τη μεθειονίνη αποσυνδέεται από το ριβόσωμα και απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα, έτοιμο για να ξαναχρησιμοποιηθεί. Στο ριβόσωμα πλέον, είναι συνδεδεμένο μόνο ένα tRNA που συγκρατεί διπεπτίδιο. Για την επιμήκυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας απαιτείται η κίνηση του ριβοσώματος κατά ένα κωδικόνιο και η επανάληψη της παραπάνω διαδικασίας.
- **Λήξη:** λήξη της σύνθεσης του πολυπεπτιδίου συμβαίνει όταν το ριβόσωμα αναγνωρίσει στο mRNA ένα κωδικόνιο λήξης, δηλαδή μία από τις τρεις τριπλέτες UAA, UAG, ή UGA. Όταν αυτό συμβεί, κανένα tRNA δεν μπορεί να το αναγνωρίσει. Αντίθετα, ο παράγοντας απελευθέρωσης μπορεί να αναγνωρίσει αυτά τα τρία κωδικόνια, προκαλώντας την απελευθέρωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας και την αποσύνδεση των δύο ριβοσωμικών υπομονάδων από το mRNA, οπότε σταματά η μετάφραση.

Η μετάφραση του mRNA μπορεί να επιτελείται παράλληλα από πολλά ριβοσώματα σε διαφορετικά σημεία του mRNA. Όταν ένα ριβόσωμα μεταφράσει τα πρώτα κωδικόνια, η θέση έναρξης της μετάφρασης είναι ελεύθερη για να προσδεθεί σε αυτή το επόμενο ριβόσωμα.

Η διαδικασία της έκφρασης γονιδίων δεν τελειώνει, όταν ο γενετικός κώδικας έχει χρησιμοποιηθεί για να δημιουργήσει την ακολουθία αμινοξέων που αποτελούν μια πρωτεΐνη. Για να είναι χρήσιμη στο κύτταρο, αυτή η νέα πολυπεπτιδική αλυσίδα πρέπει να αναδιπλωθεί προς μία μοναδική τρισδιάστατη διαμόρφωση, να δεσμεύσει τους μικρομοριακούς συμπαράγοντες που απαιτούνται για τη δραστηριότητά της, να τροποποιηθεί κατάλληλα ή να αλληλεπιδράσει με τις άλλες πρωτεϊνικές υπομονάδες με τις οποίες αποτελεί λειτουργικό μόριο. Κατά τη διάρκεια πολλών εκατομμυρίων ετών εξέλιξης, η ακολουθία αμινοξέων κάθε πρωτεΐνης έχει επιλεγεί, όχι μόνο για τη διαμόρφωση που υιοθετεί, αλλά και για τη δυνατότητα να αναδιπλωθεί γρήγορα, καθώς η πολυπεπτιδική αλυσίδα γλιστρά από το ριβόσωμα [3, 5].



Σκοπός και ιστορία της βιοπληροφορικής

Ο τομέας της βιοπληροφορικής αναπτύχθηκε πρόσφατα και είναι εύλογο να αναρωτηθεί κανείς τι ακριβώς σημαίνει αυτός ο όρος. Επιπλέον, συχνά αντικαθίσταται από τον όρο υπολογιστική βιολογία, κάνοντας ακόμη πιο δύσκολο τον προσδιορισμό του. Γενικά, αμφότεροι οι κλάδοι αντλούν πληροφορίες από συγκεκριμένους επιστημονικούς κλάδους, όπως π.χ. η βιολογία, τα μαθηματικά και η επιστήμη των υπολογιστών, για να επιλύσουν βιολογικά προβλήματα, γεγονός που οδηγεί συχνά σε σημαντική επικάλυψη των πεδίων.

Σύμφωνα με το Oxford English Dictionary:

(Molecular) Bio-informatics: *bioinformatics is conceptualising biology in terms of molecules (in the sense of Physical Chemistry) and applying «informatics techniques» (derived from disciplines such as applied maths, computer science and statistics) to understand and organise the information associated with these molecules, on a large scale. In short, bioinformatics is a management information system for molecular biology and has many practical applications.*

Σε μετάφραση:

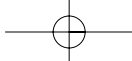
(Μοριακή) Βιοπληροφορική: *η βιοπληροφορική αντιλαμβάνεται τη βιολογία από την πλευρά των μορίων (με την έννοια της φυσικής χημείας) και εφαρμόζει «τεχνικές πληροφορικής» (προερχόμενες από επιστημονικά πεδία όπως τα εφαρμοσμένα μαθηματικά, η πληροφορική και η στατιστική) για να κατανοήσει και να οργανώσει τις πληροφορίες που συνδέονται με αυτά τα μόρια, σε μια ευρεία κλίμακα. Εν ολίγοις, η βιοπληροφορική είναι ένα σύστημα διαχείρισης πληροφοριών για τη μοριακή βιολογία και έχει πολλές πρακτικές εφαρμογές.*

Στις 17 Ιουλίου 2000 ανακοινώθηκαν από την BISTIC Definition Committee οι ορισμοί των δύο αυτών όρων, χωρίς όμως να αποφεύγεται πλήρως η επικάλυψη των δραστηριοτήτων των τομέων αυτών [6].

Πιο συγκεκριμένα, ο όρος βιοπληροφορική αφορά τη μελέτη και την υλοποίηση τεχνικών και εργαλείων για την επεξεργασία βιολογικών δεδομένων. Χρησιμοποιεί υπολογιστικές μεθόδους για να μελετήσει και να χειριστεί τα βιολογικά δεδομένα που υπάρχουν διαθέσιμα. Περιγράφει τη δημιουργία και την πρόοδο των αλγορίθμων, των υπολογιστικών και στατιστικών και της θεωρίας για να επιλύσει τα πρακτικά προβλήματα που δημιουργούνται από τη διαχείριση και την ανάλυση των βιολογικών δεδομένων.

Από την άλλη πλευρά, η υπολογιστική βιολογία αναφέρεται στην έρευνα, που οδηγείται από κάποια υπόθεση, για ένα συγκεκριμένο βιολογικό πρόβλημα κάνοντας χρήση των υπολογιστών. Βασικός σκοπός της υπολογιστικής βιολογίας είναι η έρευνα που διεξάγεται με πραγματικά ή προσομοιωμένα στοιχεία για την ανακάλυψη και την πρόοδο της βιολογικής γνώσης.

Ο διαχωρισμός των όρων βιοπληροφορική και υπολογιστική βιολογία τονίζεται και από άλλους επιστήμονες. Για παράδειγμα, ο Δρ Richard Durbin υποστηρίζει πως η βιοπληροφορική δεν περιλαμβάνει την υπολογιστική βιολογία. Παραδείγματος χάρη, η μαθηματική μοντελοποίηση δεν είναι βιοπληροφορική, ακόμη κι αν συνδέεται με βιολογικά προβλήματα. Υποστηρίζει ότι η βιοπληροφορική ασχολείται με τη χρήση των βιολογικών πληροφοριών και ειδικότερα της γενετικής πληροφορίας.



Ιστορικά, είναι γεγονός ότι η μοριακή βιολογία άρχισε να διακρίνεται ανάμεσα στις βιολογικές επιστήμες στο ίδιο χρονικό πλαίσιο στο οποίο οι υπολογιστές άρχισαν να διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην κοινωνία. Η μοριακή εξέλιξη προέκυψε τη στιγμή που οι ακολουθίες του DNA και των πρωτεϊνών έγιναν διαθέσιμες. Συγκεκριμένα, στο άρθρο του 1965 των Zuckerkandl και Pauling «χρεώνεται» η ανακάλυψη του τομέα της μοριακής εξέλιξης [7]. Επιπλέον, την ίδια χρονιά ο Moore εισήγαγε το νόμο που αναφέρει ότι ο αριθμός των τρανζίστορ που μπορεί ανέξοδα να τοποθετηθεί σ' ένα ολοκληρωμένο κύκλωμα αυξάνεται εκθετικά. Ο νόμος αυτός κατέστησε φανερό ότι οι υπολογιστές διαδραματίζουν έναν πολύ σημαντικό ρόλο στην επιστήμη [8].

Κάποιες άλλες σημαντικές χρονολογίες για τη μοριακή βιολογία είναι το 1953, όταν οι Watson και Crick πρότειναν το μοντέλο της διπλής έλικας για το DNA, και το 1955, χρονιά που ανακοινώθηκε από τον Sanger η πρώτη ακολουθία πρωτεΐνης μήκους 51 αμινοξέων.

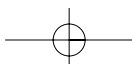
Θεωρητικά η βιοπληροφορική άρχισε το 1965, όταν κυκλοφόρησε σε έντυπη μορφή η πρώτη έκδοση του Atlas of Protein Sequence and Structure από τη Margaret Dayhoff. Ο άτλας αυτός αποτέλεσε θεμέλιο για τη δημιουργία της βάσης δεδομένων πρωτεϊνικών ακολουθιών PIR. Σχεδόν μια δεκαετία μετά την ανακάλυψη του Sanger, αναφέρθηκε και η πρώτη ακολουθία νουκλεοτιδίων μήκους 77 βάσεων. Ακολούθησε η δημιουργία πολλών βάσεων δεδομένων, όπως η Protein DataBank το 1972 και η SWISSPROT το 1986 από το τμήμα της Ιατρικής Βιοχημείας του Πανεπιστημίου της Γενεύης και το Ευρωπαϊκό Εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας (EMBL). Πλέον, οι βάσεις δεδομένων είναι αναρίθμητες και παρέχονται είτε από δημόσιους, είτε από εμπορικούς φορείς. Βλέπε Κεφάλαια 2 και 5 για περισσότερες πληροφορίες όσον αφορά τις βιολογικές βάσεις δεδομένων.

Μετά το σχηματισμό των βάσεων δεδομένων, κάποια εργαλεία έγιναν διαθέσιμα, ώστε να είναι δυνατή η αναζήτηση σε αυτές. Αρχικά, το 1970 δημοσιεύθηκε ο αλγόριθμος των Needleman-Wunsch για τη σύγκριση ακολουθιών και το 1981 ο αλγόριθμος των Smith-Waterman για τη στοίχιση ακολουθιών (βλέπε Κεφάλαιο 3 για περισσότερες λεπτομέρειες). Τέλος, ο αλγόριθμος BLAST, ο οποίος είναι γρήγορος, αποτελεί από το 1990 βασικό κομμάτι στην αναζήτηση των βάσεων δεδομένων, ακολουθούμενος σε δημοτικότητα από τον πιο αργό αλγόριθμο FASTA, που προτάθηκε το 1988. Αμφότεροι αυτοί οι αλγόριθμοι χαρακτηρίζονται ως ευρετικοί. Ο όρος αυτός χρησιμοποιείται για αλγόριθμους που βρίσκουν λύσεις μεταξύ όλων των πιθανών, αλλά δεν εγγυώνται ότι θα βρουν τη βέλτιστη. Τέτοιου είδους αλγόριθμοι, βρίσκουν μια λύση κοντινή στη βέλτιστη γρήγορα και εύκολα (για περισσότερες λεπτομέρειες βλέπε Κεφάλαιο 4).

Αξίζει, επιπλέον, να σημειωθεί ότι το 1990 ξεκίνησε το Human Genome Project. Το έργο αυτό που δημοσιεύθηκε το 2001 είχε ως στόχους του να προσδιορίσει τα περίπου 20.000-25.000 γονίδια στο ανθρώπινο DNA, να καθορίσει τις ακολουθίες των 3 δισεκατομμυρίων ζευγών βάσεων που αποτελούν το ανθρώπινο DNA, να καταχωρήσει αυτές τις πληροφορίες στις βάσεις δεδομένων και να βελτιώσει τα εργαλεία για την ανάλυση των συγκεκριμένων δεδομένων [9, 10].

Τομείς έρευνας της Βιοπληροφορικής

Η βιοπληροφορική, επομένως, παίζει ουσιαστικό ρόλο στην ανάπτυξη των στατιστικών μεθόδων για την ανάλυση των μεγάλων συνόλων δεδομένων και για την ανάπτυξη των μεθόδων



διαχείρισης πληροφοριών για τους νέους τύπους δεδομένων που παράγονται. Σημαντικές ερευνητικές προσπάθειες στον τομέα περιλαμβάνουν τη στοίχιση ακολουθιών, την εύρεση γονιδίων, την υπέρθεση των πρωτεϊνικών δομών, την πρόγνωση των πρωτεϊνικών δομών από τις ακολουθίες, την πρόβλεψη της έκφρασης γονιδίων, των αλληλεπιδράσεων μεταξύ πρωτεϊνών και τη διερεύνηση της εξελικτικής διαδικασίας [11]. Μερικοί από τους σημαντικούς τομείς της έρευνας στη βιοπληροφορική, οι οποίοι αναλύονται στη συνέχεια του βιβλίου είναι οι εξής:

Ανάπτυξη Βάσεων Δεδομένων: Περιγράφονται οι βάσεις δεδομένων και οι μηχανές αναζήτησής τους. Οι βιολογικές βάσεις δεδομένων έχουν γίνει ένα σημαντικό εργαλείο στην ενίσχυση των επιστημόνων για την κατανόηση και ερμηνεία ενός πλήθους βιολογικών φαινομένων από τη δομή των βιομορίων και την αλληλεπίδρασή τους, μέχρι την κατανόηση της εξέλιξης των ειδών.

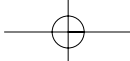
Ανάλυση και στοίχιση ακολουθιών: Η συνεχόμενη αύξηση του ποσού των διαθέσιμων ακολουθιών έχει καταστήσει αδύνατη την ανάλυσή τους με το χέρι. Σήμερα, τα προγράμματα υπολογιστών χρησιμοποιούνται για τη διερεύνηση του γονιδιώματος πολλών οργανισμών. Οι στοίχισεις, μας εμφανίζουν ποιά κομμάτια είναι μεταβλητά και ποια συντηρούνται. Αυτά δείχνουν τις θέσεις πιθανών μεταλλάξεων, προσθήκης, αφαίρεσης ή και αντικατάστασης νουκλεοτιδίων ή αμινοξέων. Επιτρέπουν τον προσδιορισμό σημαντικών λειτουργικών στοιχείων. Επιπλέον, καθιστούν δυνατή την αυτόματη αναζήτηση γονιδίων και ρυθμιστικών ακολουθιών μέσα σε ένα γονιδίωμα. Αυτό είναι σημαντικό, καθώς δεν αποτελούν όλα τα νουκλεοτίδια μέσα σε ένα γονιδίωμα μέρος γονιδίων, παρά ένα μόνο μικρό ποσοστό αυτών.

Φυλογενετική ανάλυση: Η εξελικτική βιολογία ασχολείται με τη μελέτη της προέλευσης και καταγωγής των ειδών, καθώς και της αλλαγής των εμβίων όντων με το πέρασμα των χρόνων. Η πληροφορική έχει βοηθήσει τους εξελικτικούς βιολόγους με διάφορους τρόπους, όπως η αποκρυπτογράφηση του ρυθμού εξέλιξης ενός μεγάλου αριθμού γονιδίων με τη μέτρηση των αλλαγών στο DNA τους, καθώς και τη δημιουργία σύνθετων υπολογιστικών προτύπων των πληθυσμών, με σκοπό την πρόβλεψη της έκβασης κάθε συστήματος με το πέρασμα του χρόνου.

Ρυθμιστική ανάλυση: Η ρύθμιση είναι η σύνθετη ενορχήστρωση των ενδοκυτταρικών γεγονότων, αρχίζοντας από ένα εξωκυτταρικό σήμα που καταλήγει σε μια αύξηση ή μείωση της δραστηριότητας μίας ή περισσότερων πρωτεϊνών. Οι τεχνικές της βιοπληροφορικής έχουν εφαρμοστεί για να ερευνηθούν τα βήματα αυτής της διαδικασίας.

Πρωτεϊνική ανάλυση: Η πρόγνωση πρωτεϊνικών δομών από την αλληλουχία τους και η οπτικοποίηση της δομής τους είναι κάποιες από τις σημαντικές εφαρμογές της βιοπληροφορικής. Επιπλέον, ένα ενδιαφέρον πεδίο είναι η πρόβλεψη των πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ πρωτεϊνών. Βασισμένοι στις τρισδιάστατες δομές, πιθανώς να καταλήξουμε σε αποτελέσματα σε μεγάλο βαθμό ίδια με αυτά των πειραμάτων αλληλεπίδρασης μεταξύ πρωτεϊνών.

Πρωτεομική: Η πρωτεομική είναι μια ευρείας κλίμακας μελέτη των πρωτεϊνών, ιδιαίτερα όσον αφορά τις δομές και λειτουργίες τους. Η πρωτεομική θεωρείται συχνά το επόμενο βήμα στη μελέτη των βιολογικών συστημάτων, μετά από τη γονιδιωματική. Είναι δε πιο περίπλοκη από τη γονιδιωματική, καθώς, ενώ το γονιδίωμα ενός οργανισμού είναι σταθερό (με εξαιρέσεις όπως την προσθήκη του γενετικού υλικού που προκαλείται από έναν ιό, ή τις γρήγορες



μεταλλαγές, μεταθέσεις, και επεκτάσεις που μπορούν να εμφανιστούν σε έναν όγκο), το πρωτόωμα διαφέρει από κύτταρο σε κύτταρο ενός οργανισμού.

Βιβλιογραφία

1. Cooper GM, *The cell: a molecular approach*, 2nd edn. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., 2000.
2. Cavalier-Smith T., The origin of eukaryotic and archaebacterial cells. *Ann N Y Acad Sci.* 1987, 503:17-54.
3. Alberts B, *et al.*, *Molecular biology of the cell*, 4th edn. New York: Garland Science, 2002.
4. Crick F, Central dogma of molecular biology. *Nature.* 1970, 227:561-563.
5. Lodish H, *et al.*, *Molecular cell biology*, 5th edn. New York: W H Freeman & Co., 2003.
6. BISTIC (Biomedical Information Science and Technology Initiative Consortium). 2000, Definition Committee NIH working definition of bioinformatics and computational biology., Retrieved 9 Sept 2008; [<http://www.bisti.nih.gov/CompuBioDef.pdf>]
7. Zuckerkandl E and Pauling L, Molecules as documents of evolutionary history. *J Theor Biol.* 1965, 8:357-366.
8. Moore G., Cramming More Components onto Integrated Circuits. *Electronics Magazine.* 1965, 38:114-117.
9. Lander ES, *et al.*, Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001, 409:860-921.
10. Venter JC, *et al.*, The sequence of the human genome. *Science.* 2001, 291:1304-1351.
11. Claverie J-M and Notredame C., *Bioinformatics for dummies*, 2nd edn. Hoboken, NJ.: Wiley Pub., 2007.

