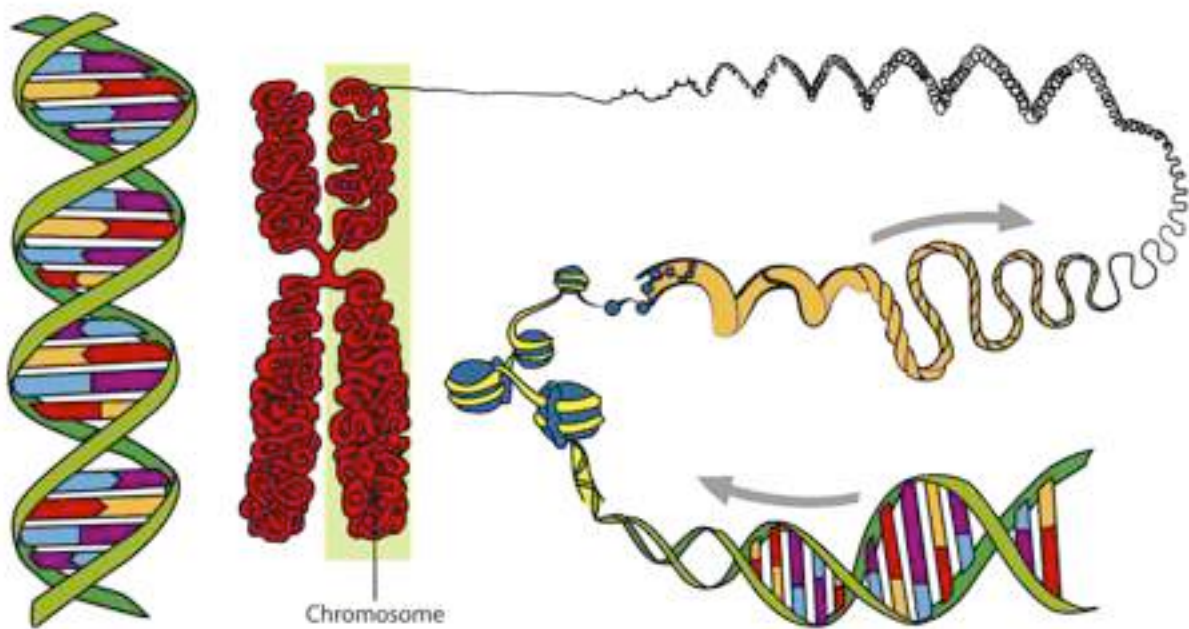


Σχεδιασμός και ανάπτυξη φαρμάκων

Κεφάλαιο 06

Νουκλεϊκά οξέα: Δομή και λειτουργία



Περιεχόμενα Κεφαλαίων

6.1 Η δομή του DNA

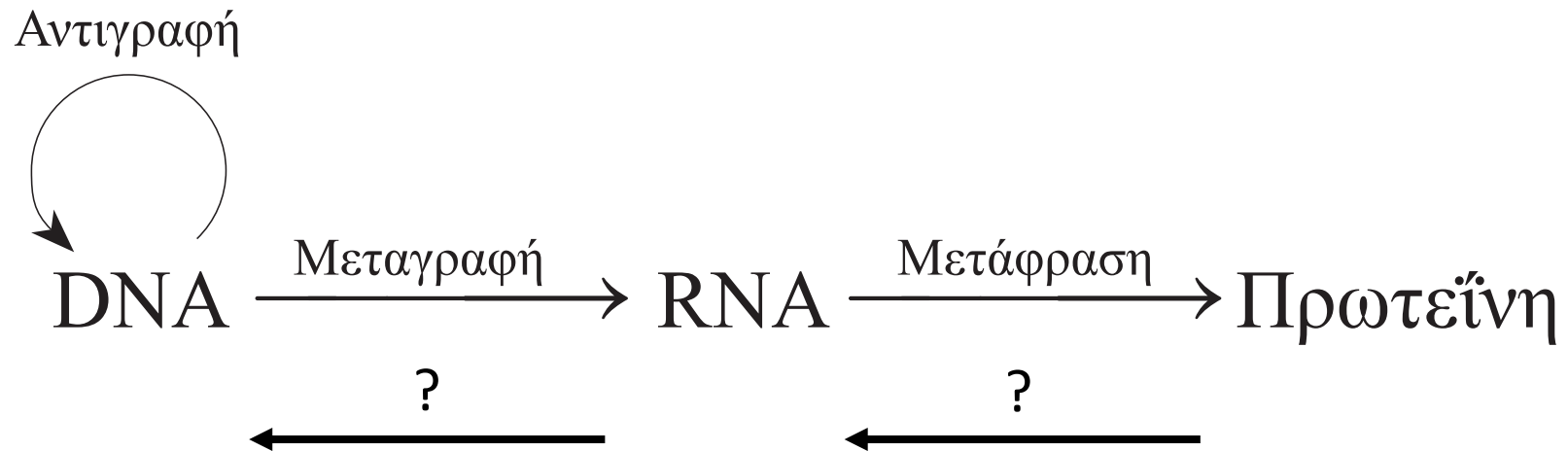
6.2 RNA και πρωτεϊνική σύνθεση

6.3 Γενετικές ασθένειες

6.4 Μοριακή βιολογία, γενετική μηχανική

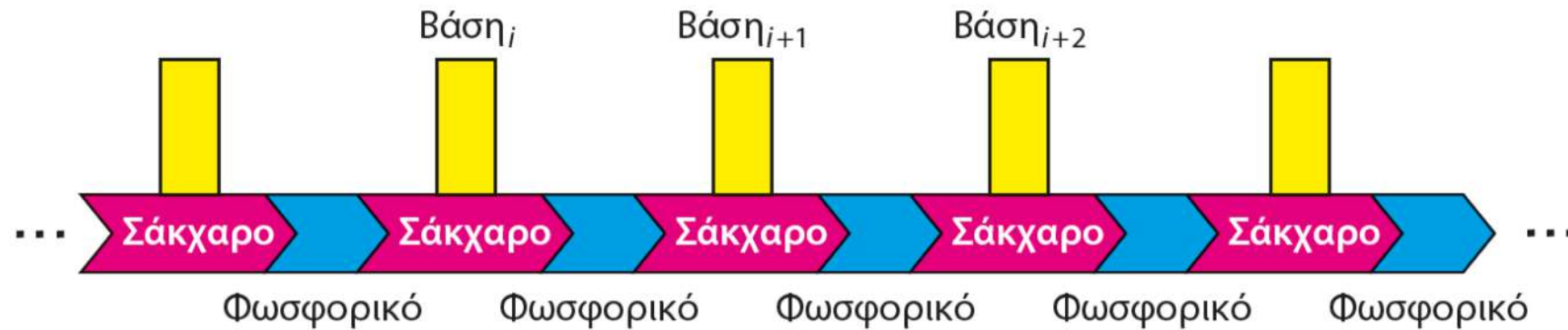
Το DNA και το RNA

Ο Crick ονόμασε αυτό το σχήμα κεντρικό δόγμα



Το DNA και το RNA

Ένα νουκλεϊκό οξύ αποτελείται από τέσσερα είδη βάσεων, προσδεμένων σε έναν φωσφοσακχαρικό κορμό

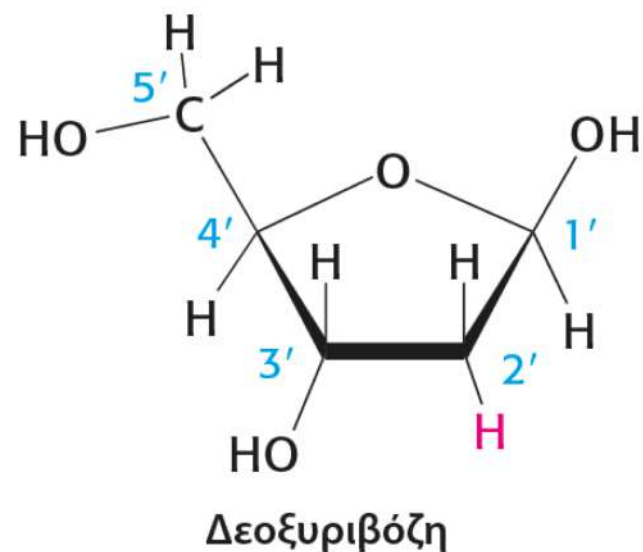
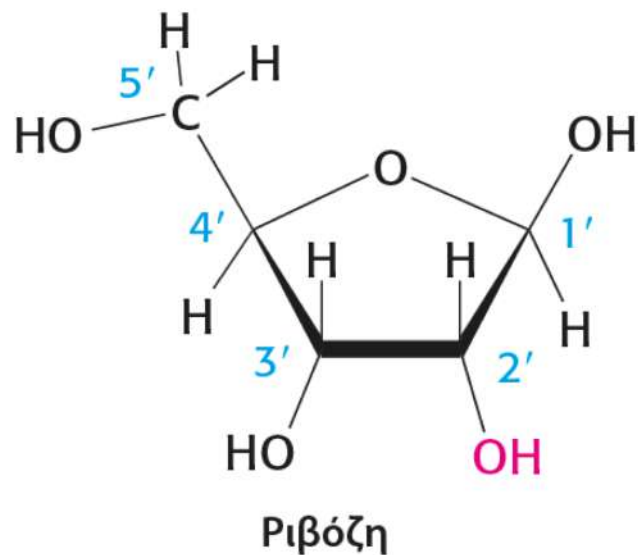


- Κάθε μονομερής μονάδα του πολυμερούς είναι ένα νουκλεοτίδιο
- Κάθε νουκλεοτίδιο αποτελείται από τρία συστατικά: ένα σάκχαρο, μία φωσφορική ομάδα και μία από 4 βάσεις
- Η αλληλουχία των βάσεων ενός πολυμερούς χαρακτηρίζει τη μοναδικότητα ενός νουκλεϊκού οξέος και αντιπροσωπεύει μια μορφή γραμμικών πληροφοριών

Το DNA και το RNA

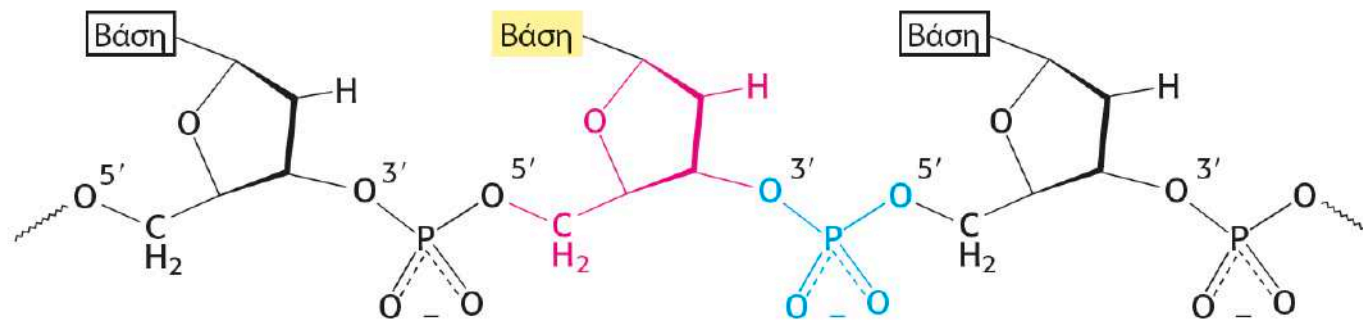
Το σάκχαρο στο δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ (deoxyribonucleic acid, DNA) είναι η δεοξυριβόζη

Τα άτομα στα τμήματα σακχάρων αριθμούνται και τονίζονται για να διακρίνονται από τα άτομα των βάσεων
Γιατί;

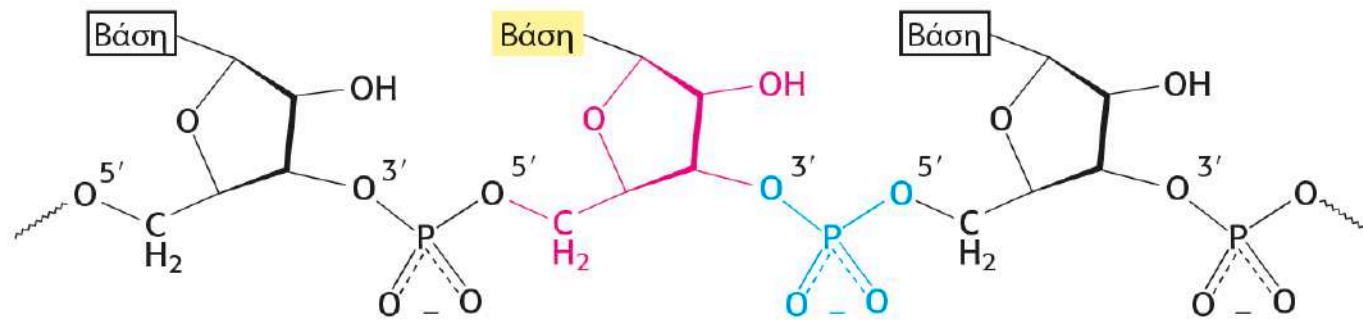


Το DNA και το RNA

Ο φωσφοσακχαρικός κορμός των νουκλεϊκών οξέων σχηματίζεται με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς 3'-προς-5'



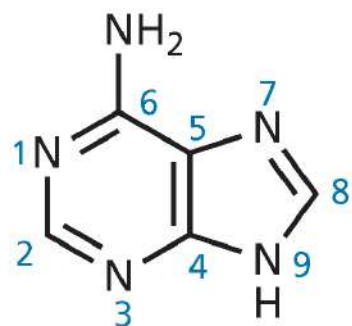
DNA



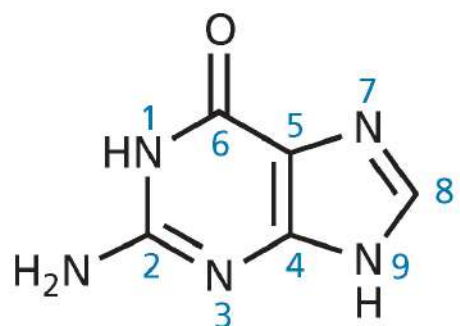
RNA

6.1 Η δομή του DNA

Βάσεις νουκλεϊκών οξέων

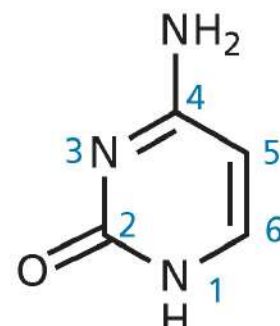


Adenine

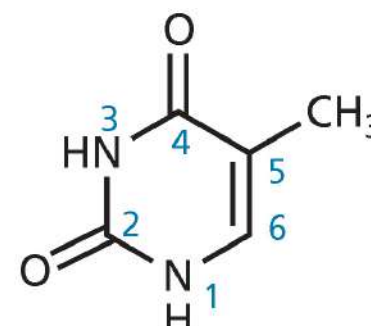


Guanine

Purines



Cytosine

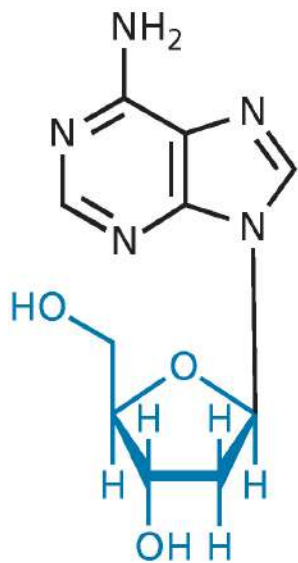


Thymine

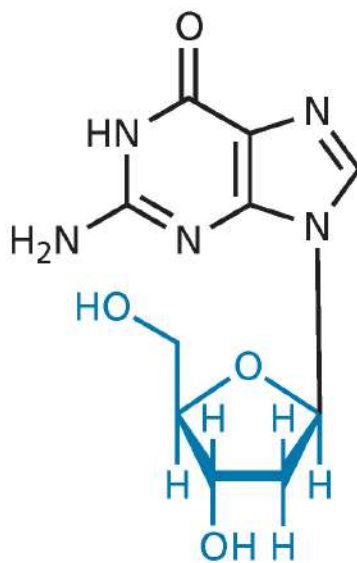
Pyrimidines

6.1 Η δομή του DNA

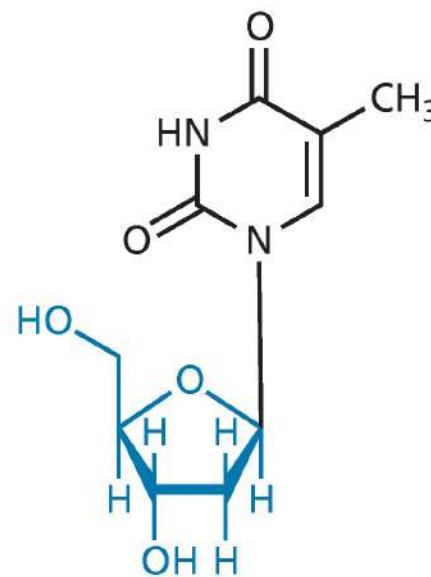
Νουκλεοζίτες = Σάκχαρο + βάση νουκλεϊκού οξέος



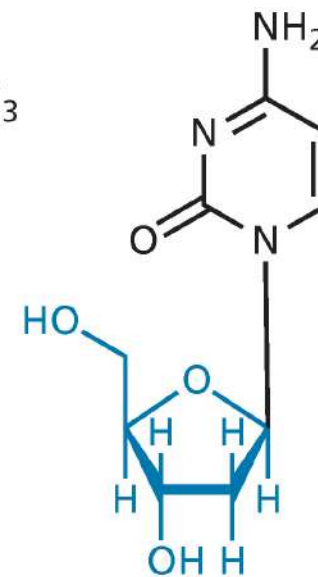
Deoxyadenosine



Deoxyguanosine



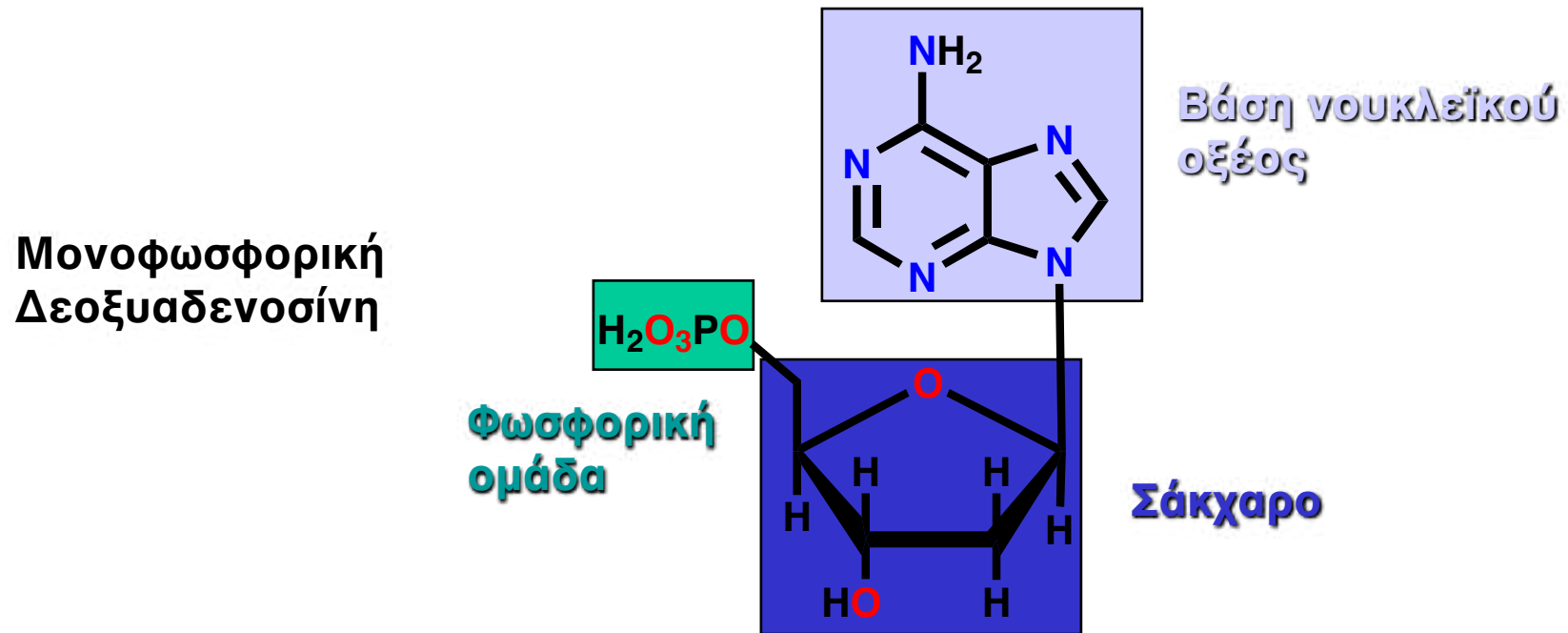
Deoxythymidine



Deoxycytidine

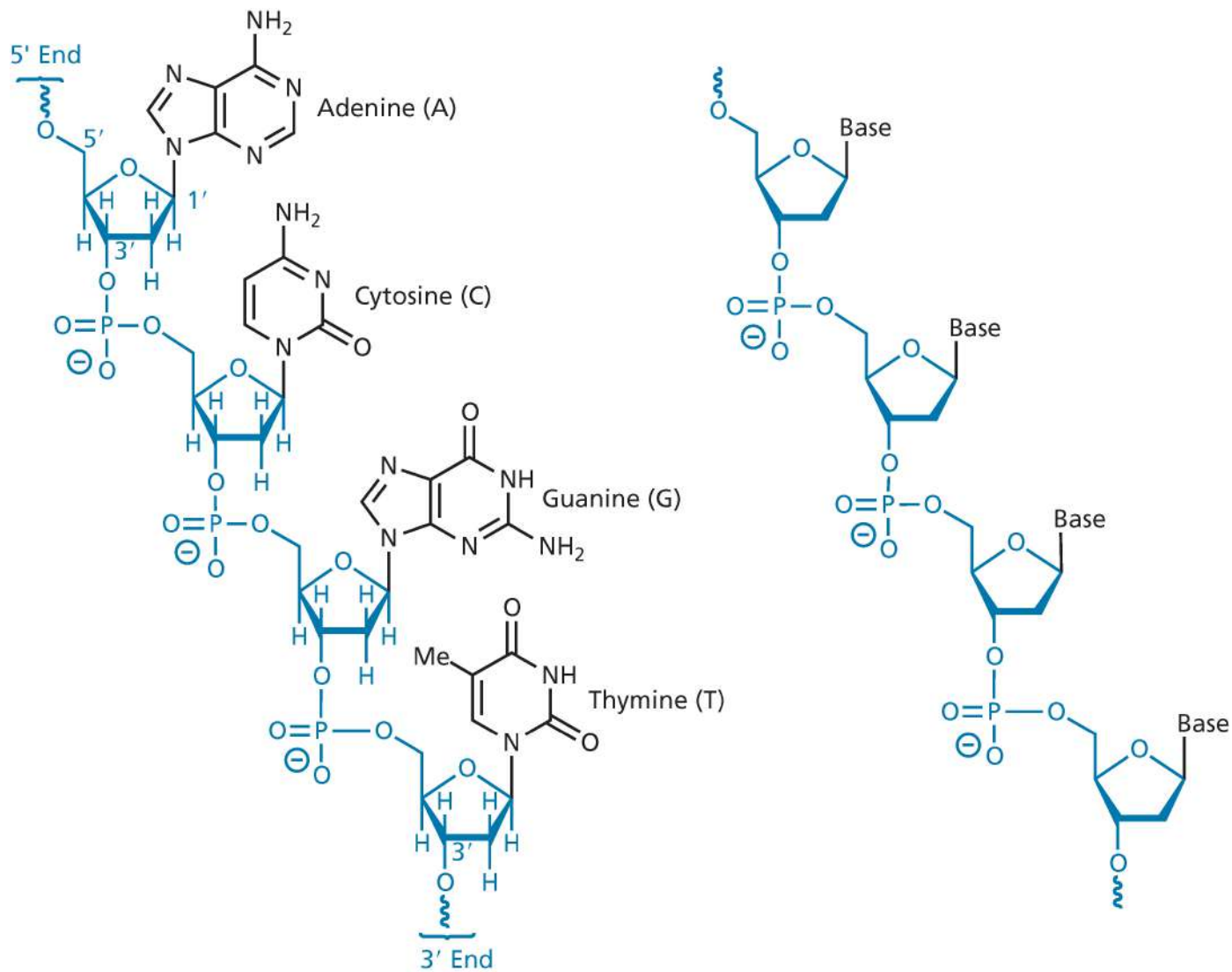
6.1 Η δομή του DNA

Νουκλεοτίδιο = φωσφορική ομάδα + σάκχαρο + βάση νουκλεϊκού οξέος



6.1 Η δομή του DNA

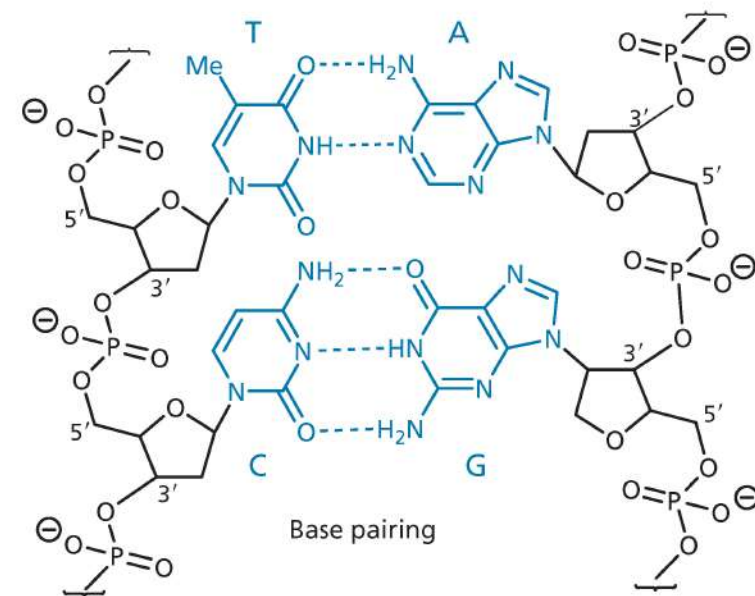
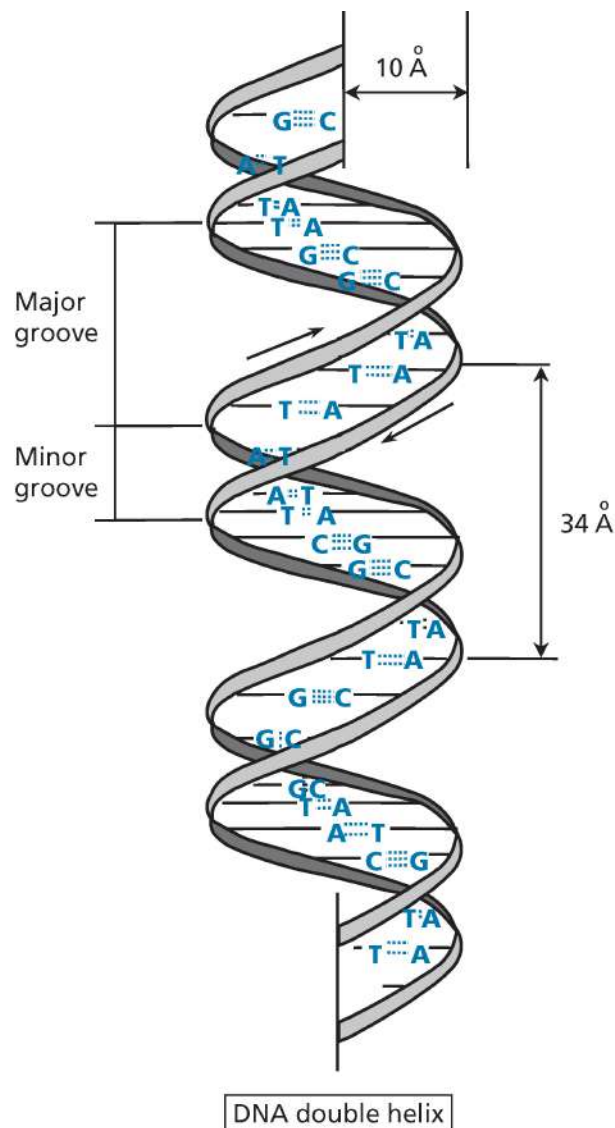
Πρωτοταγής δομή



6.1 Η δομή του DNA

Δευτεροταγής δομή – Διπλή έλικα

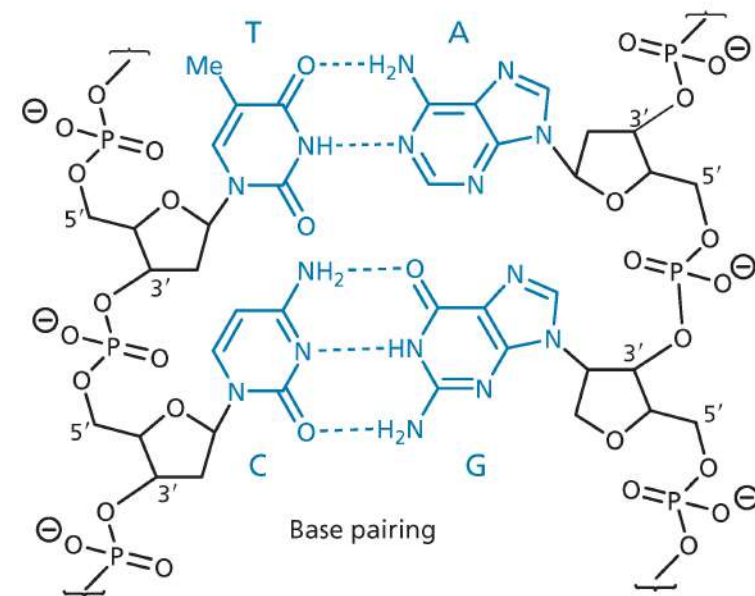
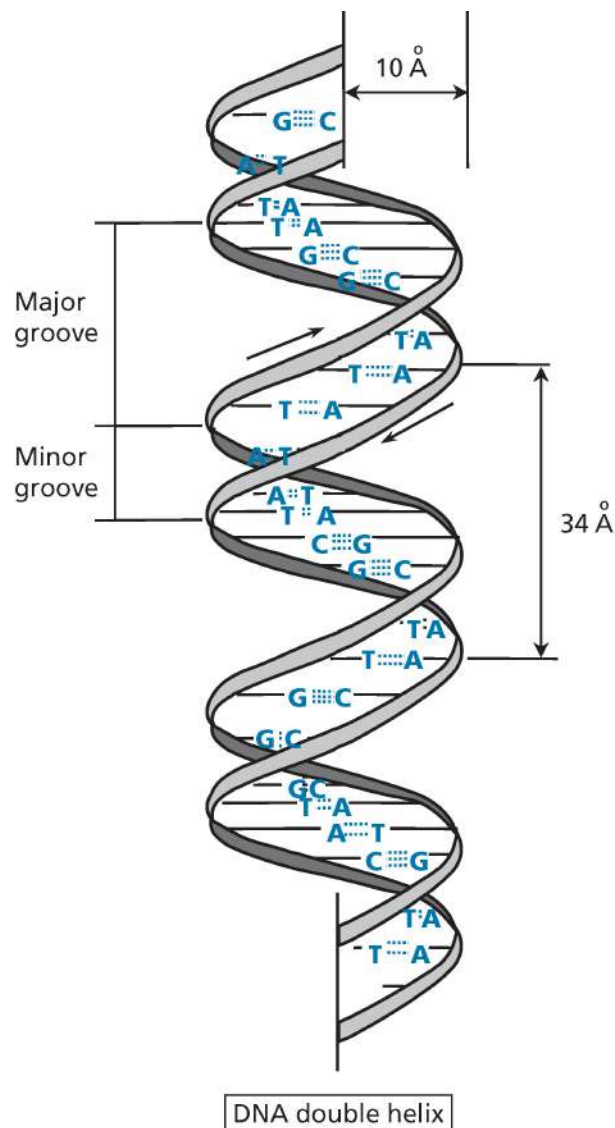
- Ο φωσφο-σακχαρικός σκελετός ιοντίζεται και κοιτάζει προς τα έξω (ευνοϊκές αλληλεπιδράσεις με το νερό)
- Οι βάσεις νουκλεϊκού οξέος δείχνουν προς τα μέσα και δημιουργούν ζεύγη A-T ή G-C
- Οι πουρίνες δημιουργούν ζεύγη με πυριμιδίνες – σταθερή διάμετρος της έλικας



6.1 Η δομή του DNA

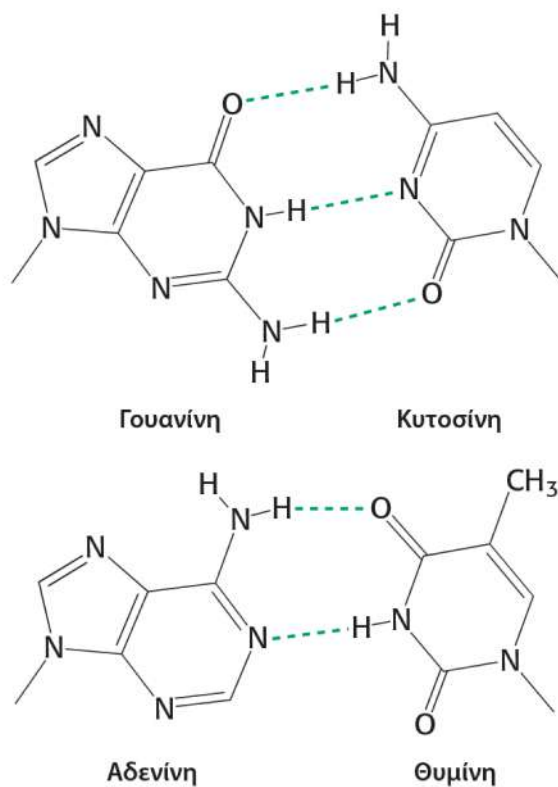
Δευτεροταγής δομή – Διπλή έλικα

- Τα ζεύγη βάσεων στοιβάζονται (αλληλεπιδράσεις van der Waal μεταξύ των ζευγών)
- Οι αλυσίδες είναι συμπληρωματικές
- Σύζευξη βάσεων G-C πραγματοποιείται με 3 δεσμούς-H
- Σύζευξη βάσεων A-T πραγματοποιείται με 2 δεσμούς-H

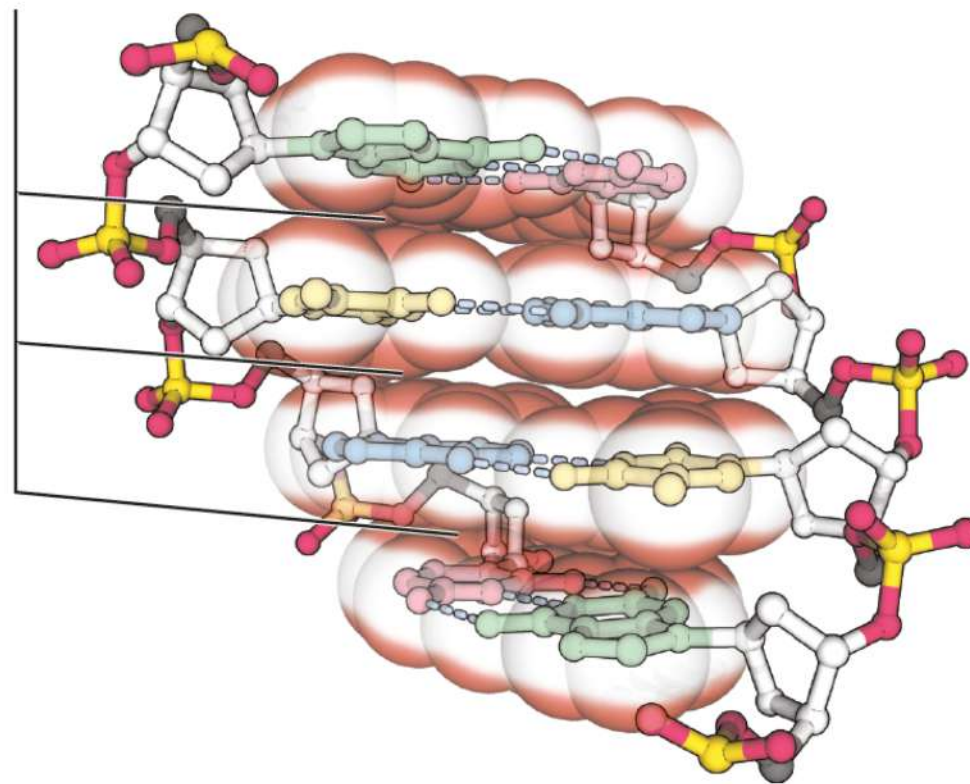


6.1 Η δομή του DNA

Δευτεροταγής δομή – Διπλή έλικα

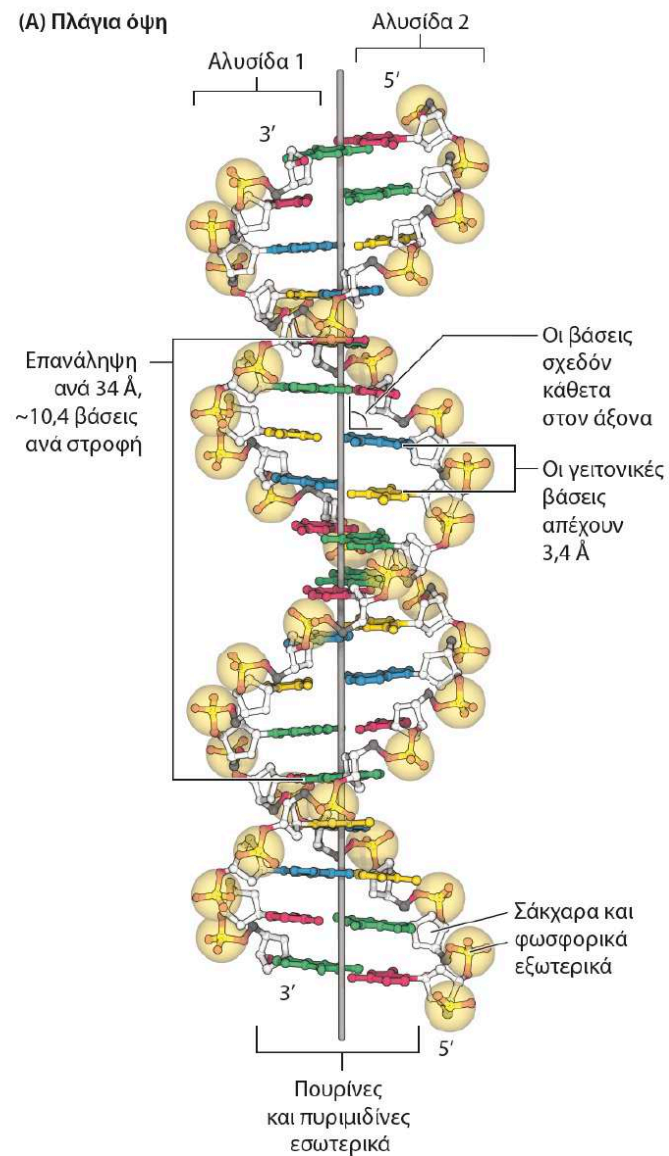
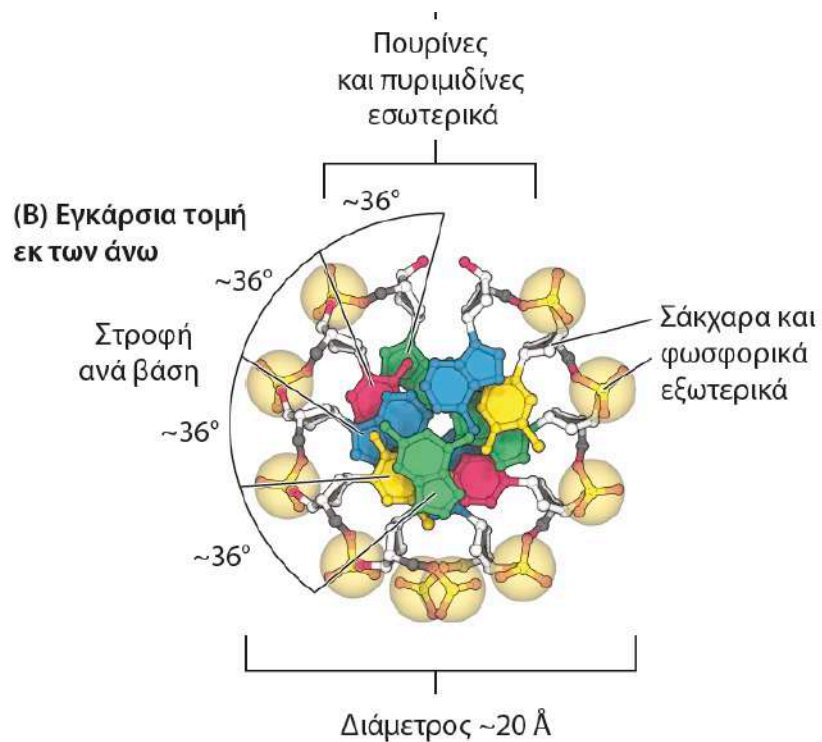


Επιστοιβάξη βάσεων (αλληλεπιδράσεις van der Waals)



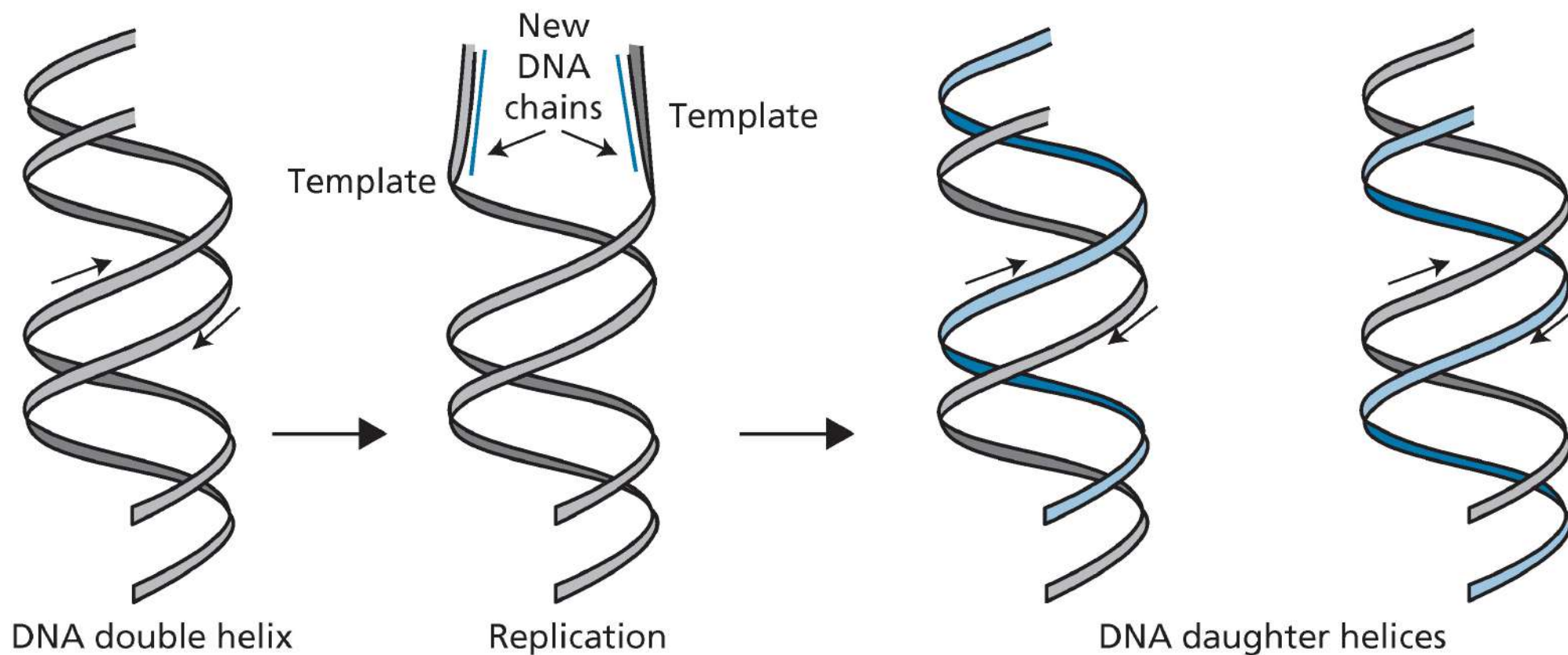
6.1 Η δομή του DNA

Το μοντέλο του Watson-Crick



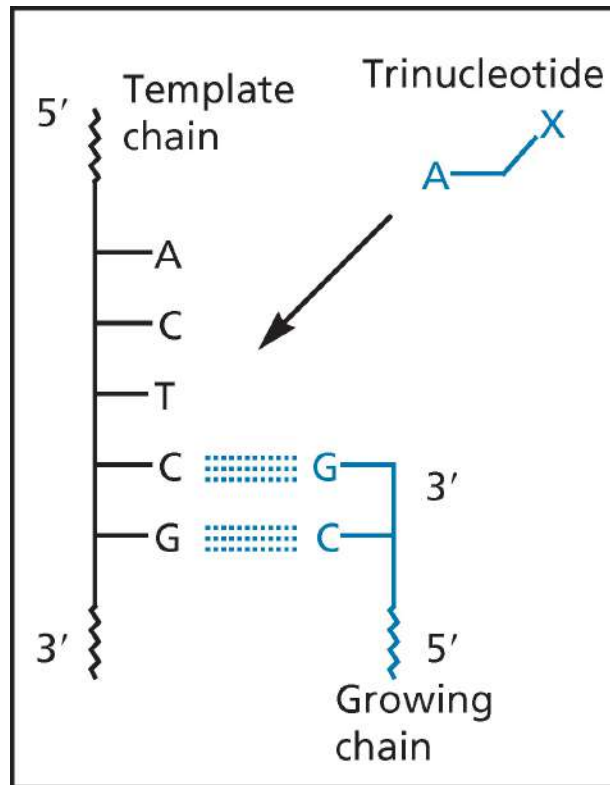
6.1 Η δομή του DNA

Αντιγραφή

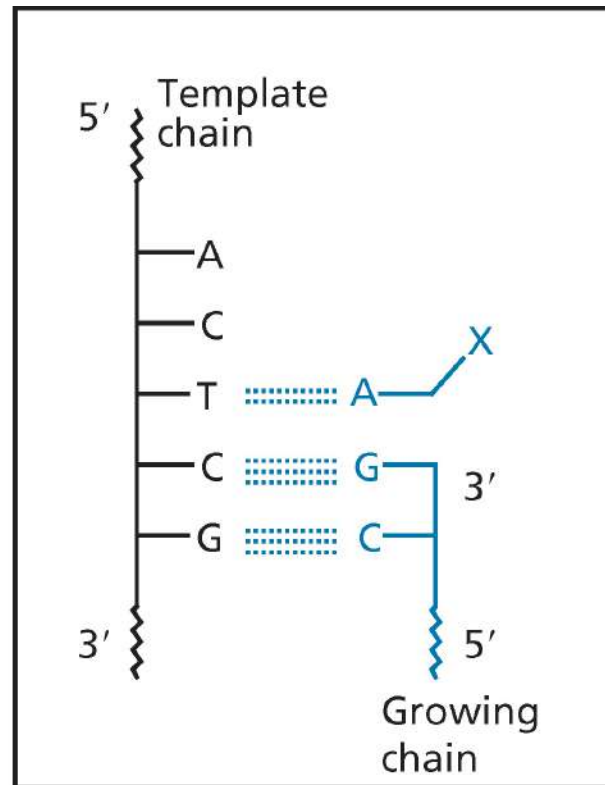


6.1 Η δομή του DNA

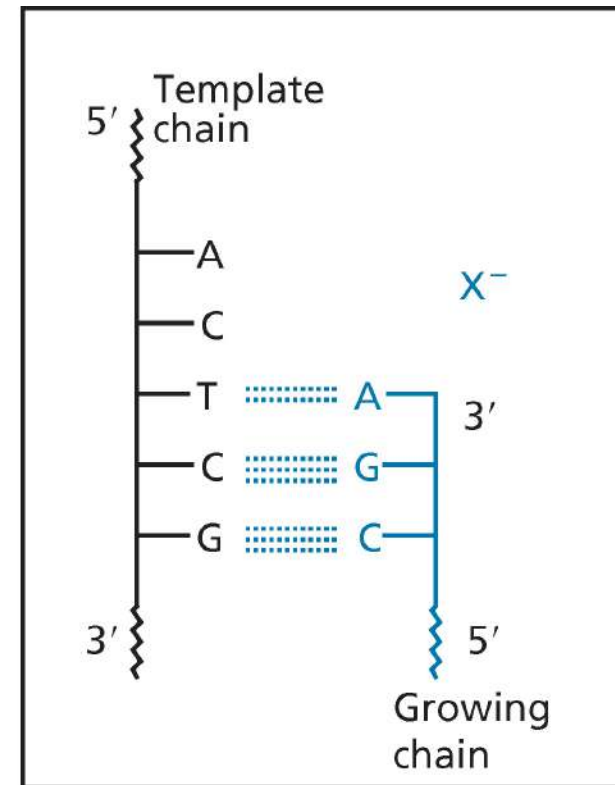
Αντιγραφή



Approach of trinucleotide



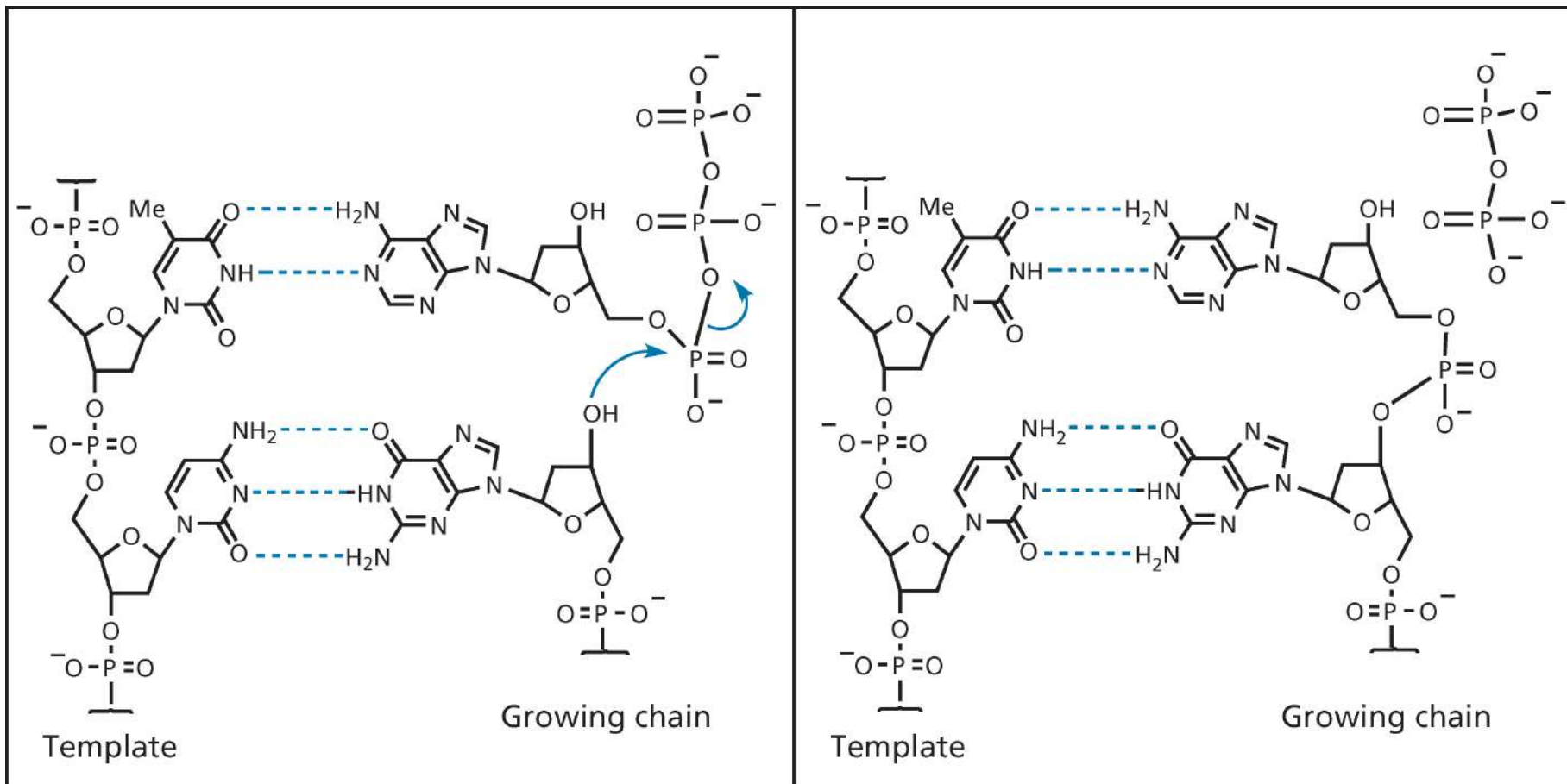
Base pairing



Enzyme-catalysed 'splicing'

6.1 Η δομή του DNA

Αντιγραφή





6.1 Η δομή του DNA

Τριτοταγής δομή

- Η διπλή έλικα συσπειρώνεται σε τριδιάστατο σχήμα – υπερελίκωση/υπερσπείρωση
- Η διπλή έλικα πρέπει να εκτυλιχθεί κατά τη διάρκεια της αντιγραφής
- Η εκτύλιξη οδηγεί σε αυξημένη τάση
- Χαλάρωση μέσω ενζυμικά καταλυόμενης αποκοπής και επιδιόρθωση της αλυσίδας του DNA
- Οι αντιβακτηριακές ενώσεις κινολόνη και φθοριοκινολόνη αναστέλλουν αυτό το ένζυμο

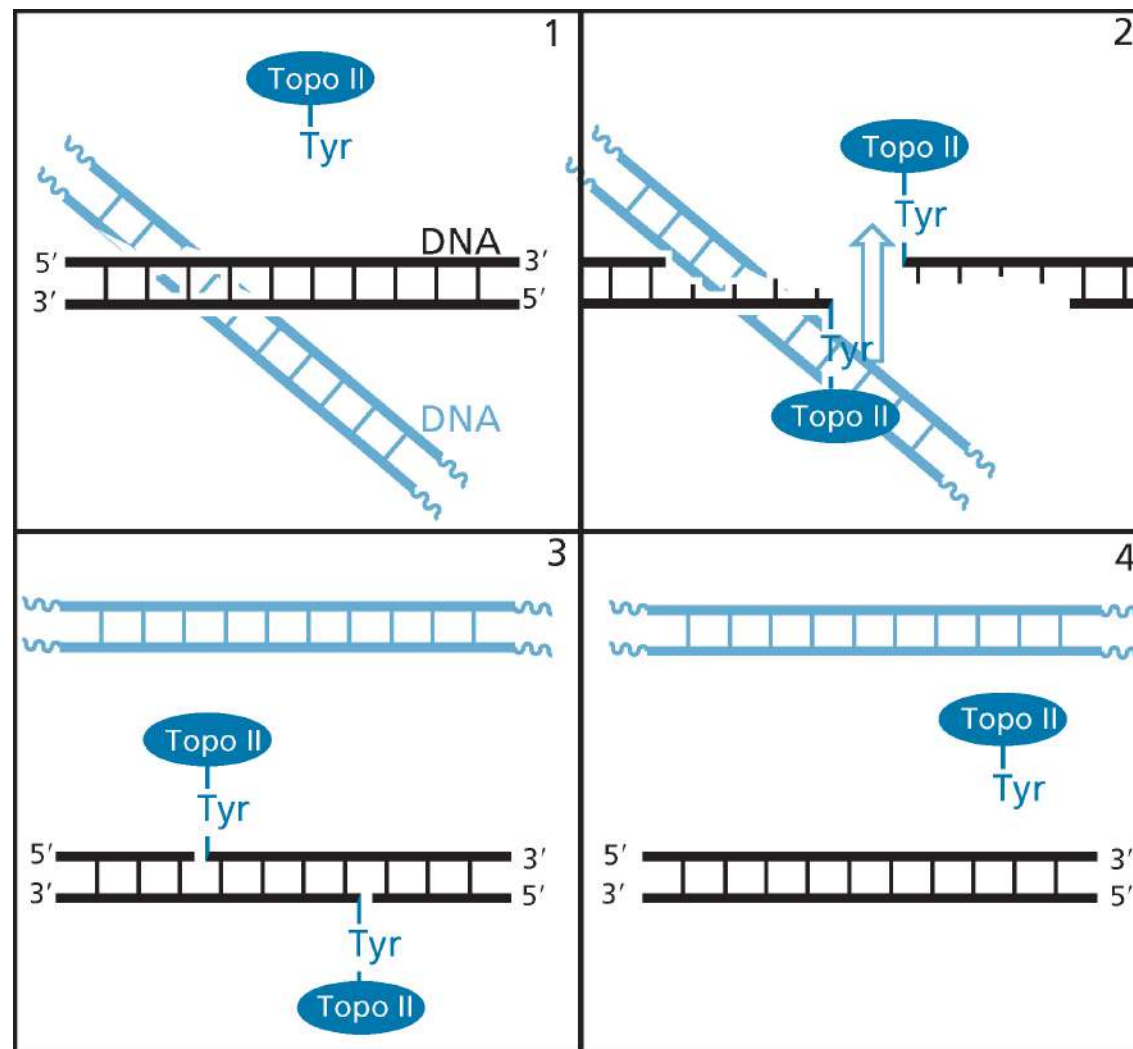
6.1 Η δομή του DNA

Δράση της τοποϊσομεράσης II

Χαλαρώνει την τάση στρέψης στη διπλή έλικα του DNA μέσω προσωρινού ανοίγματος της αλυσίδας του DNA και τέμνει μια άθικτη αλυσίδα μέσω της κομμένης αλυσίδας

Η τοποϊσομεράσης I;

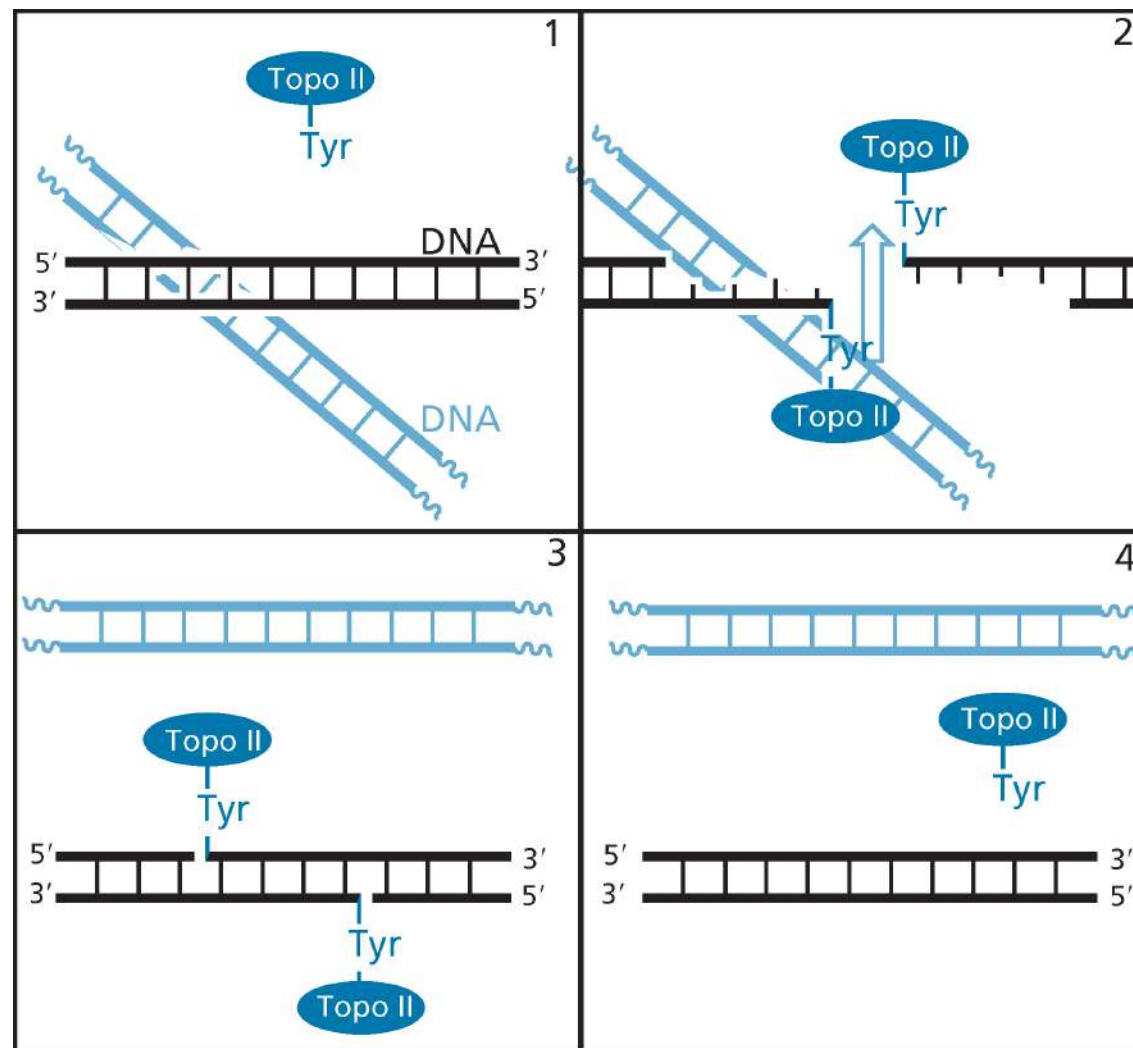
Η τοποϊσομεράσης IV, ένα βακτηριακό ένζυμο
Αποτελεί φαρμακευτικό στόχο (φθοροκινολόνες)



6.1 Η δομή του DNA

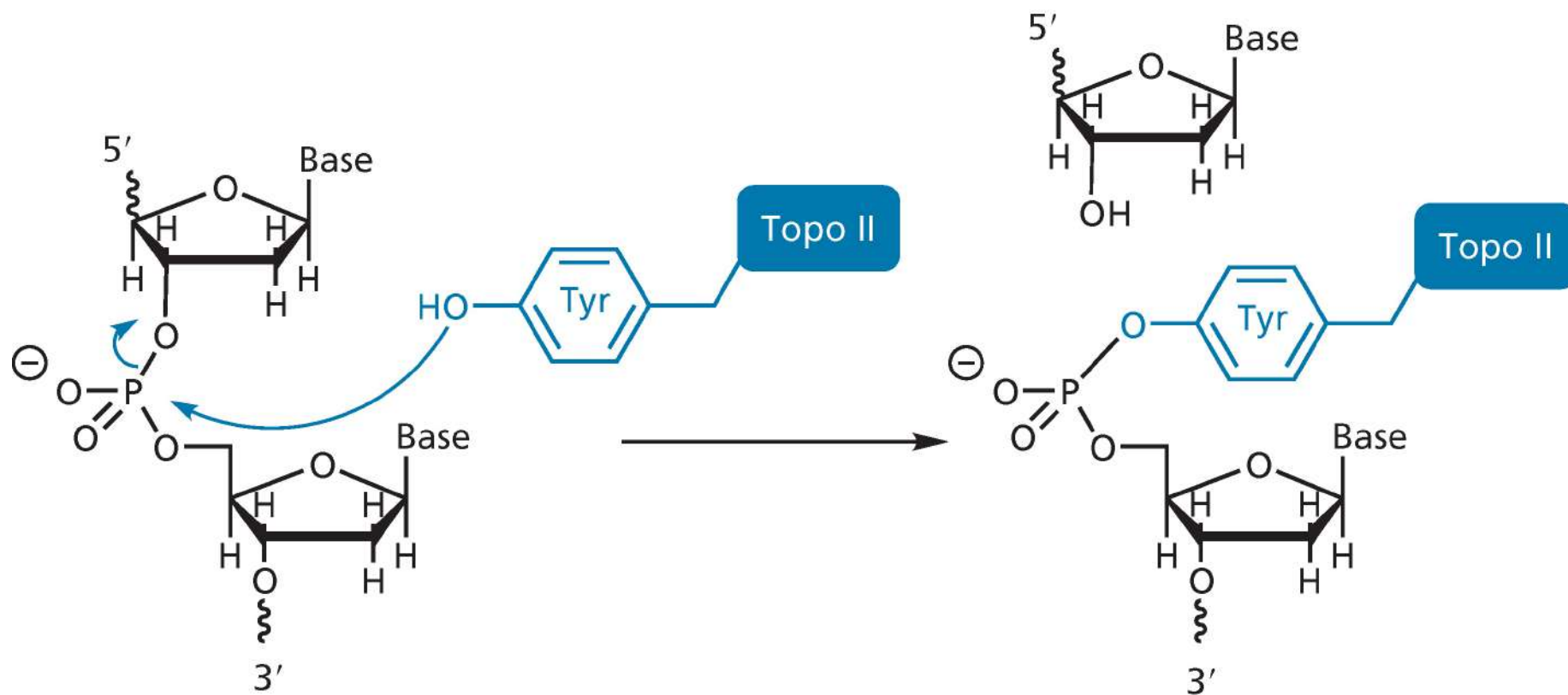
Δράση της τοποϊσομεράσης II

1. Τα κατάλοιπα τυροσίνης στο ένζυμο εμπλέκονται στη διαδικασία διάσπασης της αλυσίδας
2. Τα κατάλοιπα σχηματίζουν ομοιοπολικούς δεσμούς με το DNA
3. Το ένζυμο τραβάει τις αλυσίδες σε αντίθετες κατευθύνσεις για να δημιουργήσει ένα κενό
4. Η άθικτη αλυσίδα του DNA περνάει μέσω του κενού
5. Το «σπάσιμο» επανασυνδέεται



6.1 Η δομή του DNA

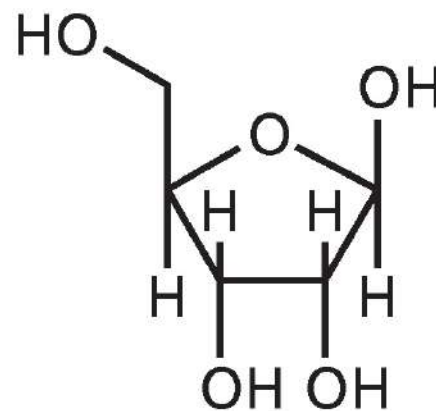
Δράση της τοποϊσομεράσης II – Ο μηχανισμός τομής της αλυσίδας



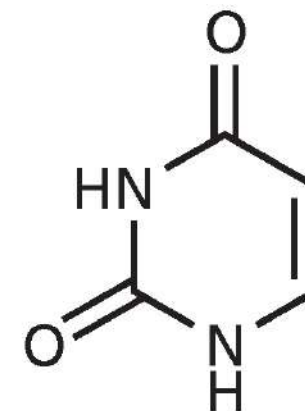
6.2 RNA και πρωτεϊνική σύνθεση

Πρωτοταγής δομή

- Ίδια με τη δομή του DNA με τις ακόλουθες εξαιρέσεις
- Χρησιμοποιείται η ριβόζη έναντι της δεοξυριβόζης
- Η ουρακίλη αντικαθιστά τη θυμίνη



Ribose

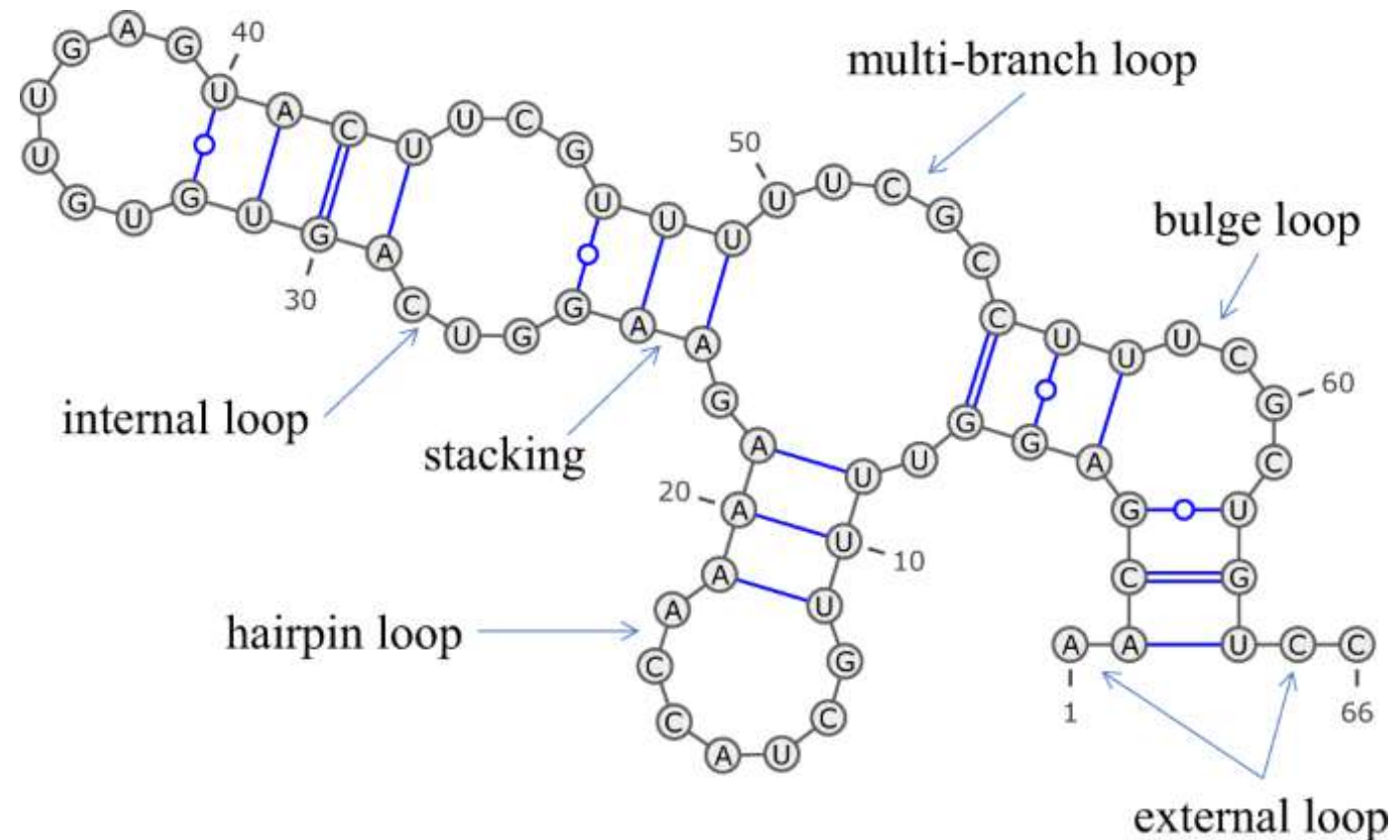


Uracil

6.2 RNA και πρωτεϊνική σύνθεση

Δευτεροταγής δομή

- Μονή αλυσίδα (έλικα)
- Κάποιες περιοχές έχουν ελικοειδή δευτεροταγή δομή λόγω σύζευξης βάσεων της ίδιας αλυσίδας (βλ. t-RNA)
- Η αδενίνη δημιουργεί ζεύγος με την ουρακίλη, ενώ η γουανίνη με την κυτοσίνη



6.2 RNA και πρωτεϊνική σύνθεση

Τριτοταγής δομή

Τρεις τύποι RNA συμμετέχουν στην πρωτεϊνοσύνθεση

- **Αγγελιαφόρο RNA (mRNA)**

Μεταφέρει τον κώδικα για μια πρωτεΐνη από το DNA στο σημείο παραγωγής πρωτεϊνών

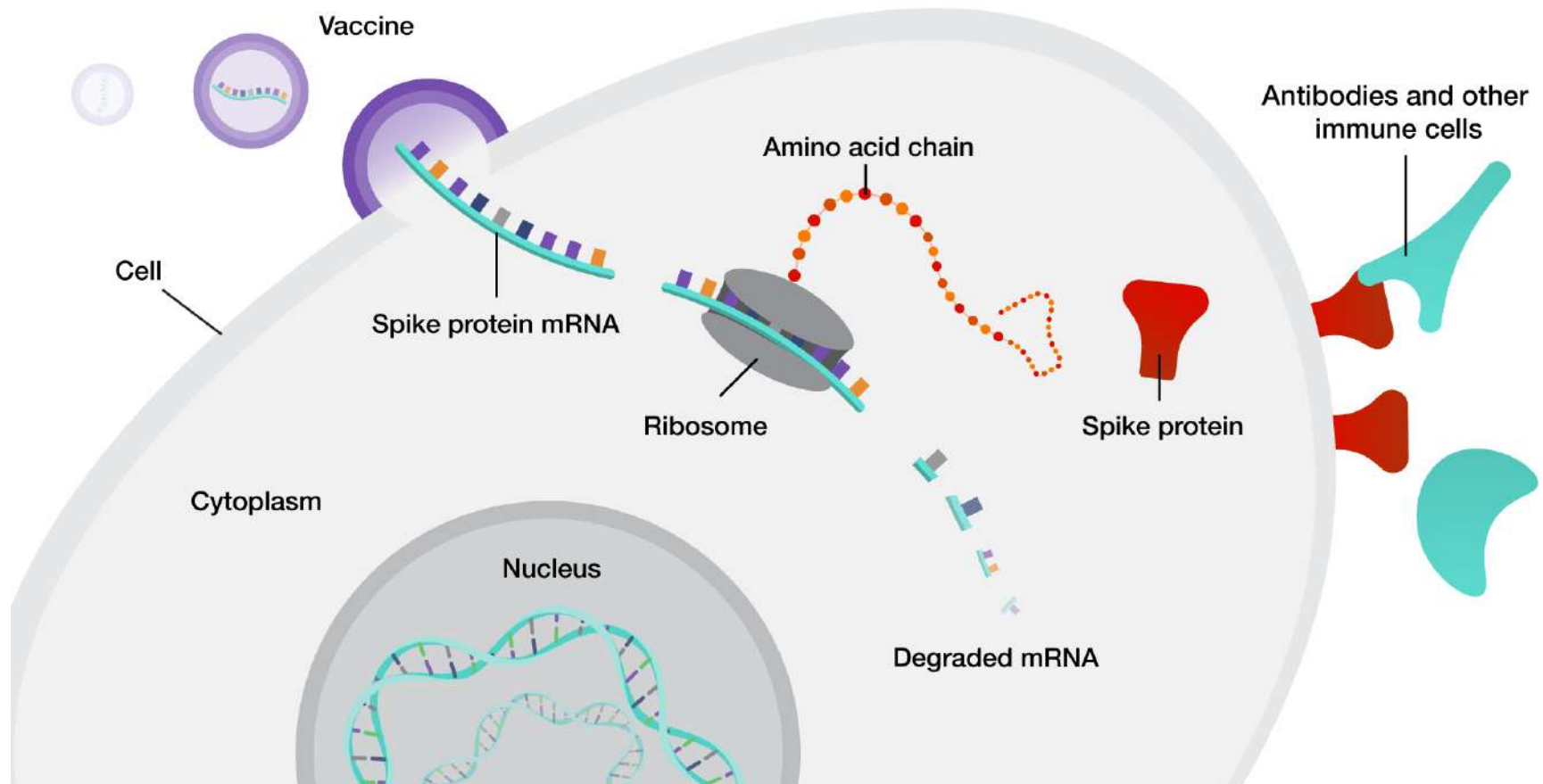
- **Μεταφορικό RNA (tRNA)**

Η μονάδα του προσαρμογέα που συνδέει τον κώδικα τριπλέτας του mRNA με συγκεκριμένο αμινοξύ

- **Ριβοσωμικό RNA (rRNA)**

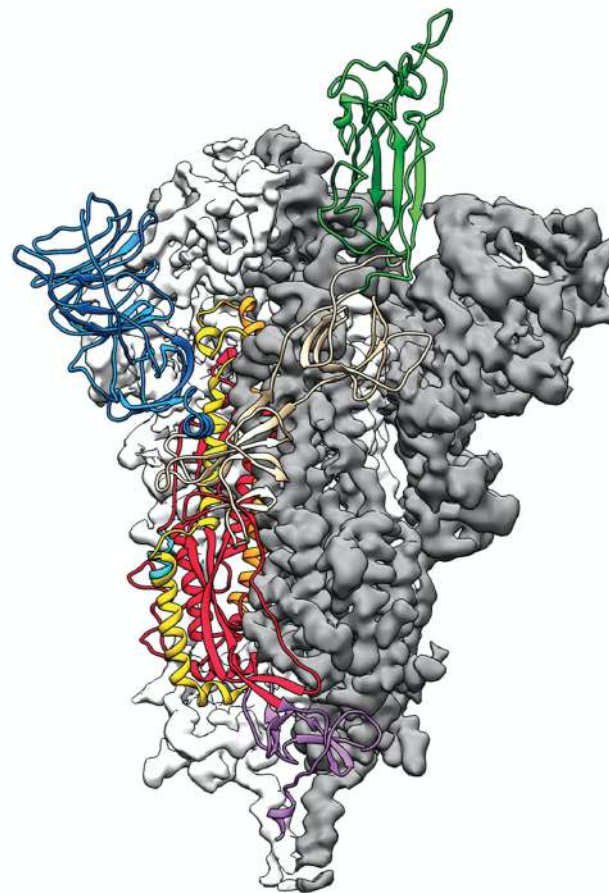
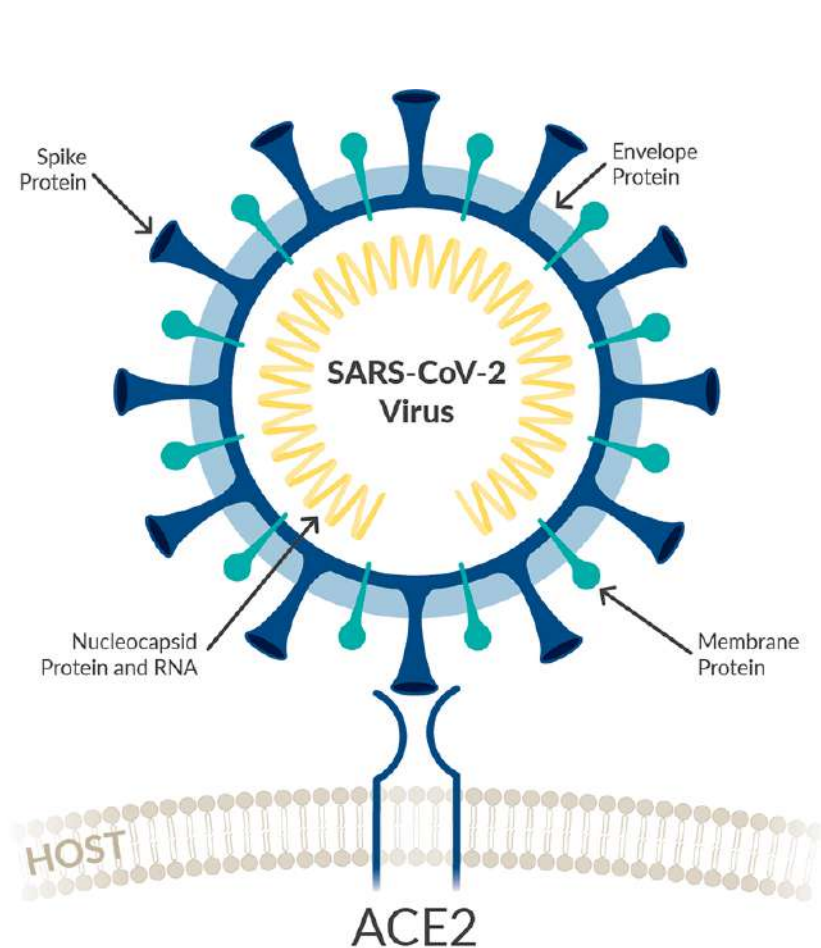
Υπάρχει στα ριβοσώματα (τα σημεία παραγωγής της πρωτεϊνοσύνθεσης). Έχει σημαντικό δομικό και καταλυτικό ρόλο

6.X mRNA εμβόλια

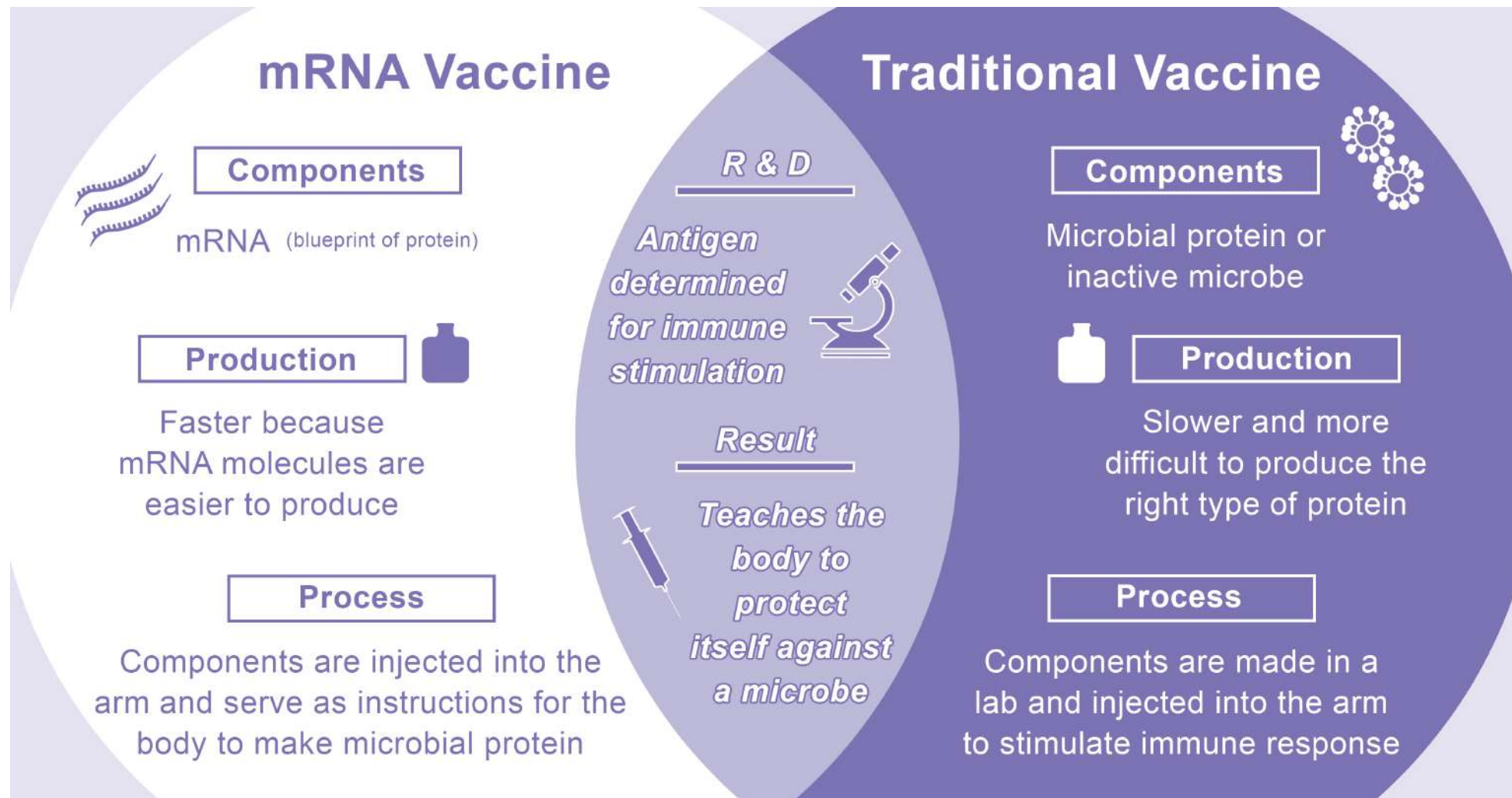


6.X mRNA εμβόλια

Spike protein



6.X mRNA εμβόλια

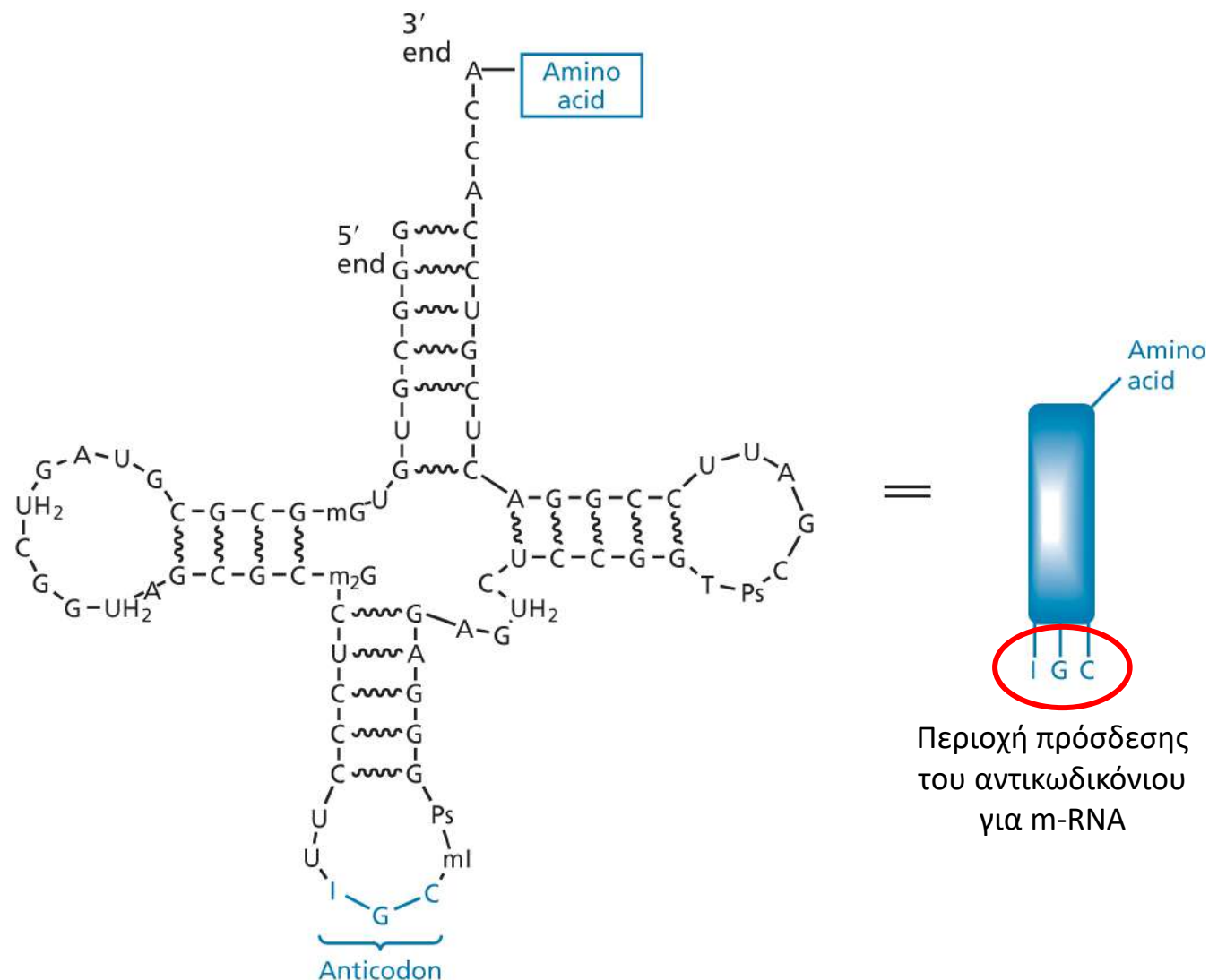


6.2 RNA και πρωτεϊνική σύνθεση

Μεταφορικό RNA αλανίνης του ζυμομύκητα

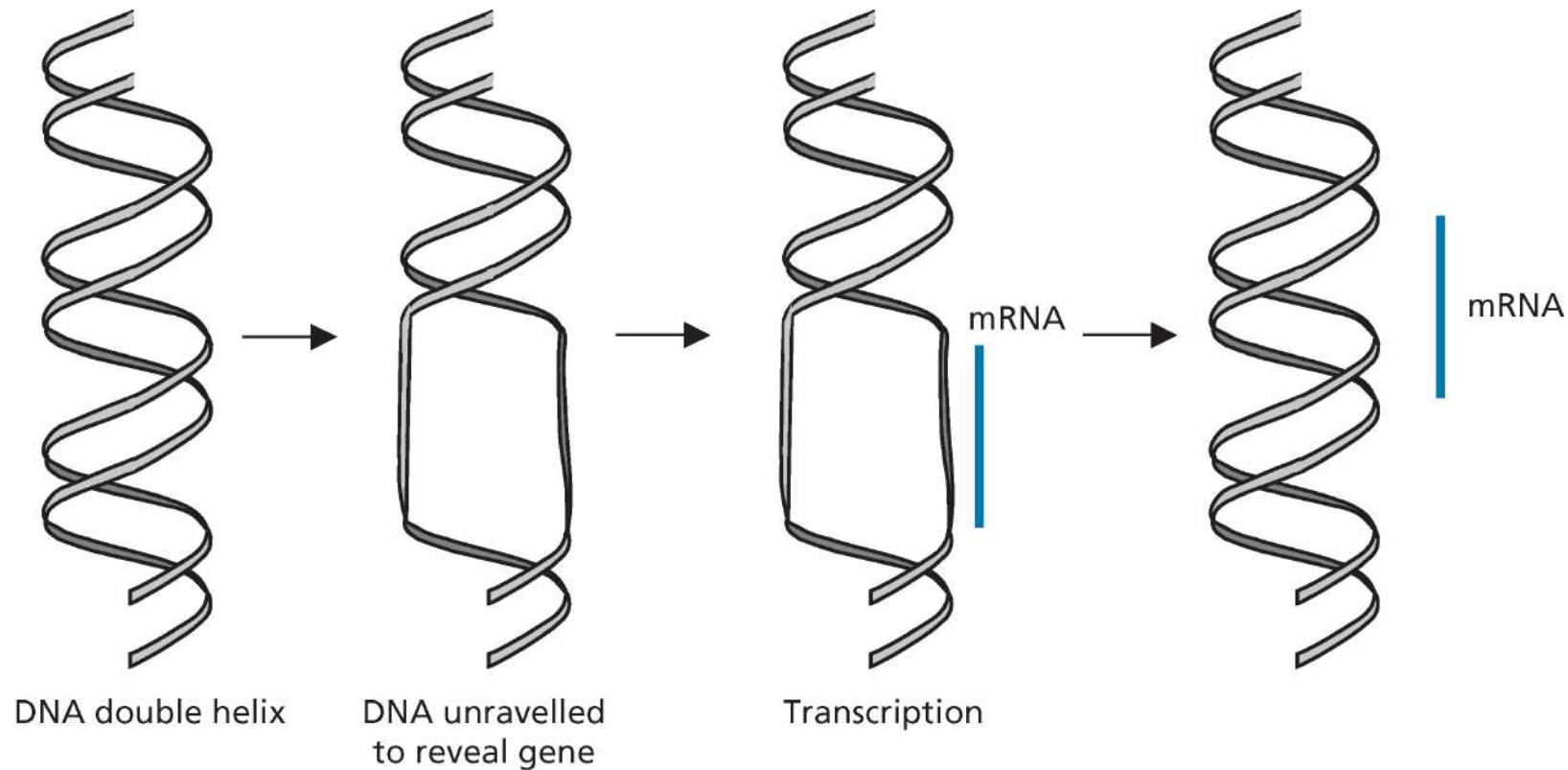
Αντικωδικόνιο

- περιέχει 3 βάσεις ειδικά για την πρόσδεση του αμινοξέος
- ζεύγη βάσεων με μια συμπληρωματική τριπλέτα κώδικα στο m-RNA (το κωδικόνιο)

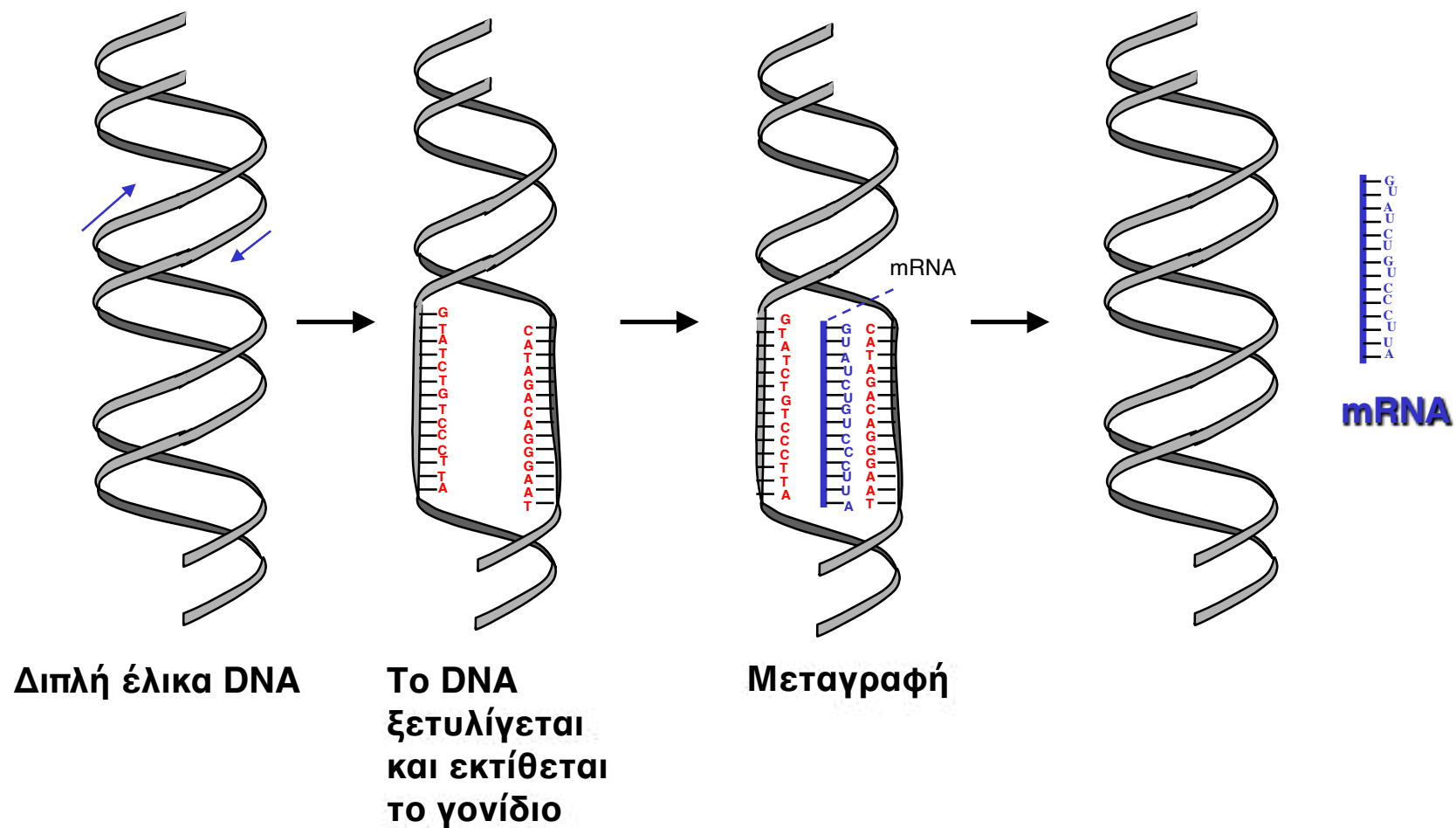


6.2 RNA και πρωτεϊνική σύνθεση

Μεταγραφή – Η αντιγραφή ενός τμήματος DNA που κωδικοποιεί μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη

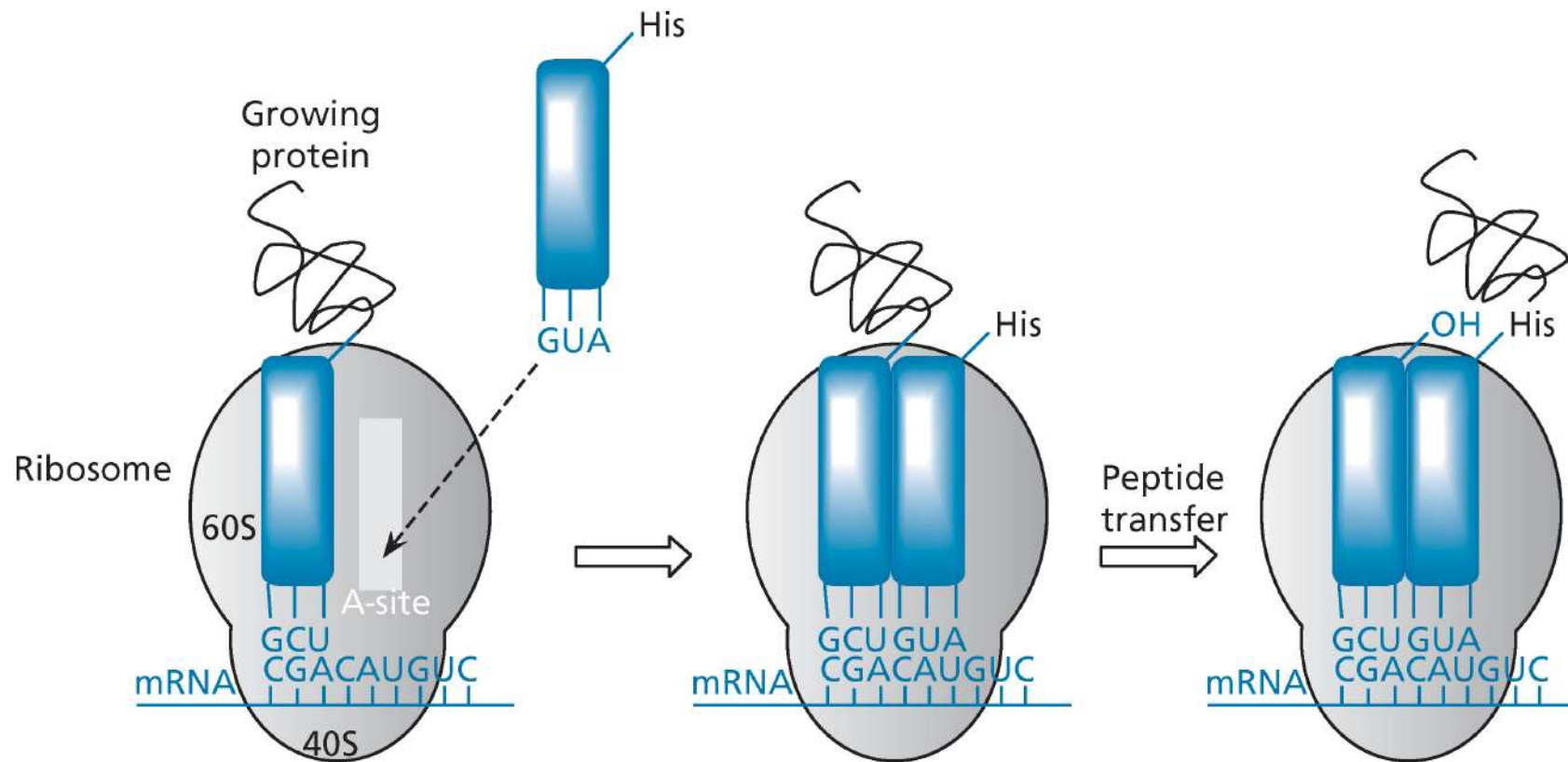


6.2 RNA και πρωτεϊνική σύνθεση



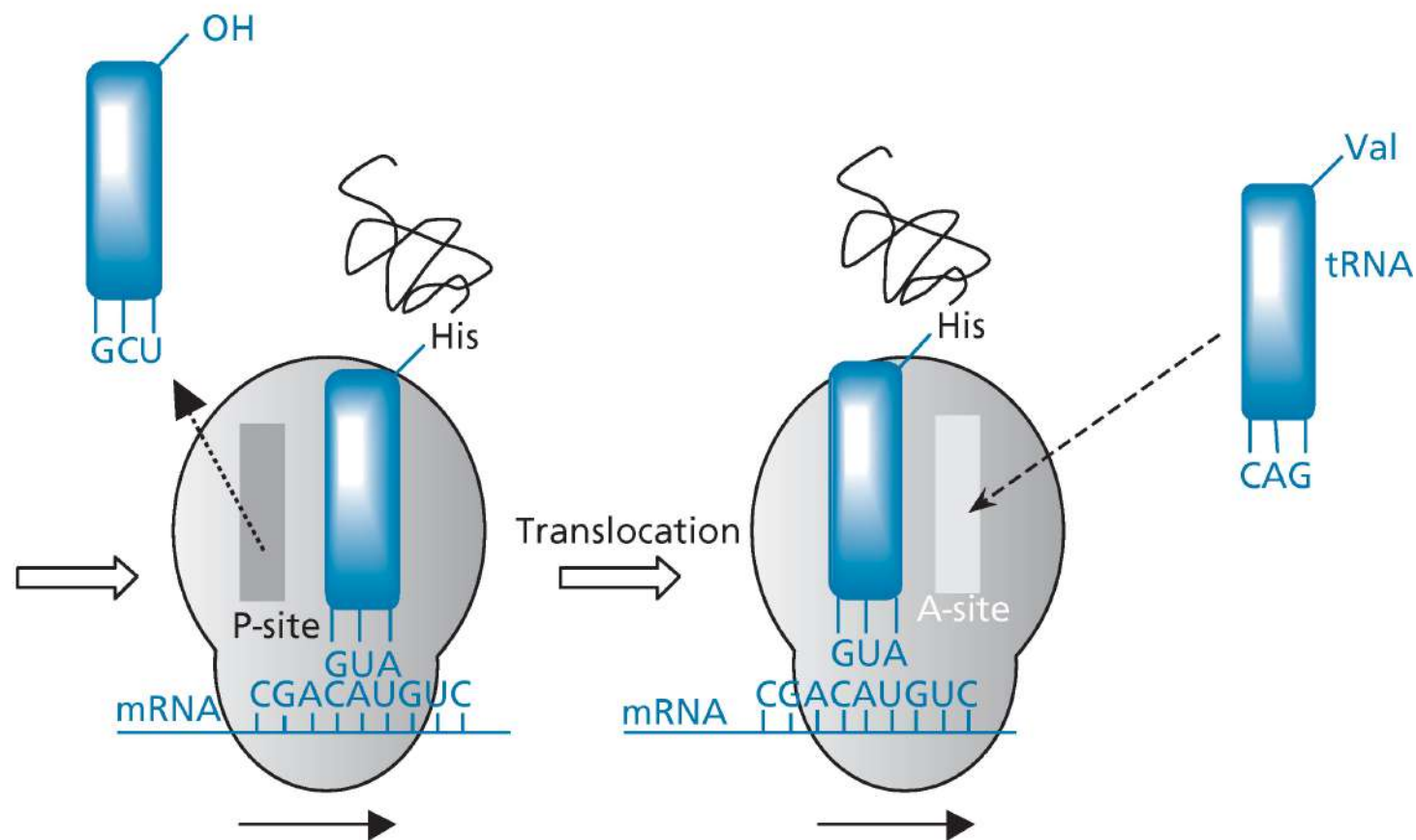
6.2 RNA και πρωτεϊνική σύνθεση

Μετάφραση - πρωτεϊνοσύνθεση



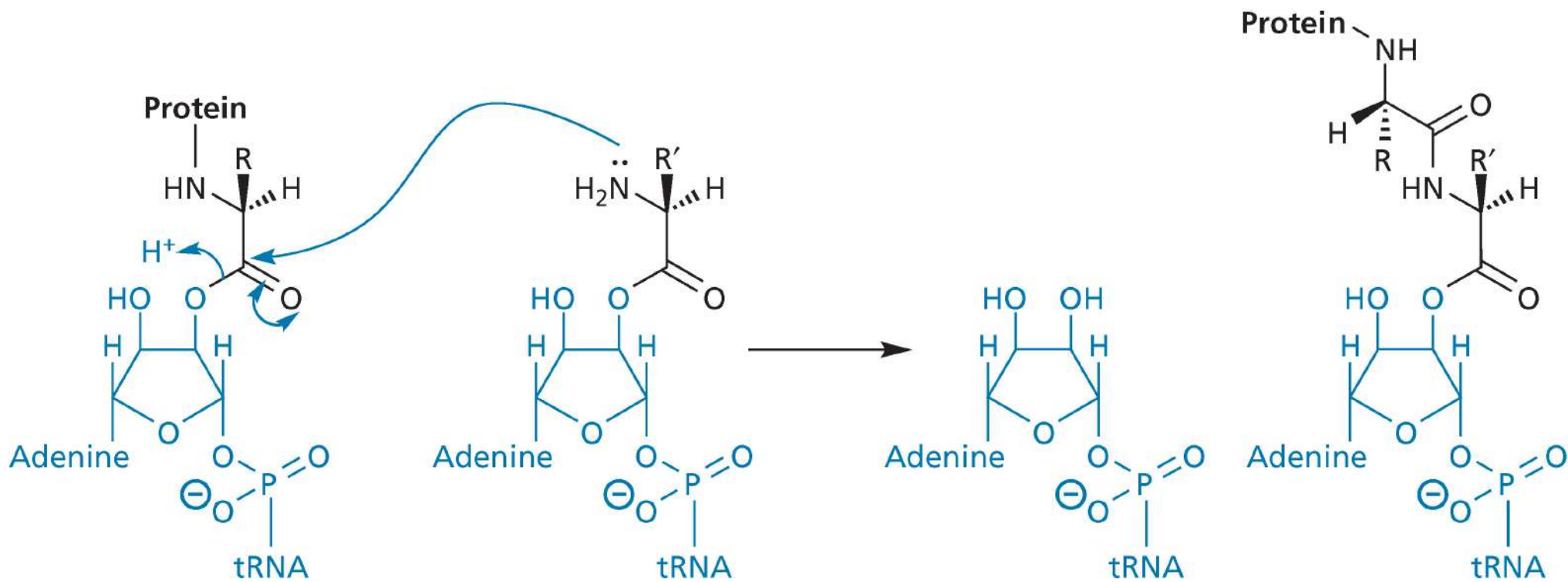
6.2 RNA και πρωτεϊνική σύνθεση

Μετάφραση - πρωτεϊνοσύνθεση



6.2 RNA και πρωτεϊνική σύνθεση

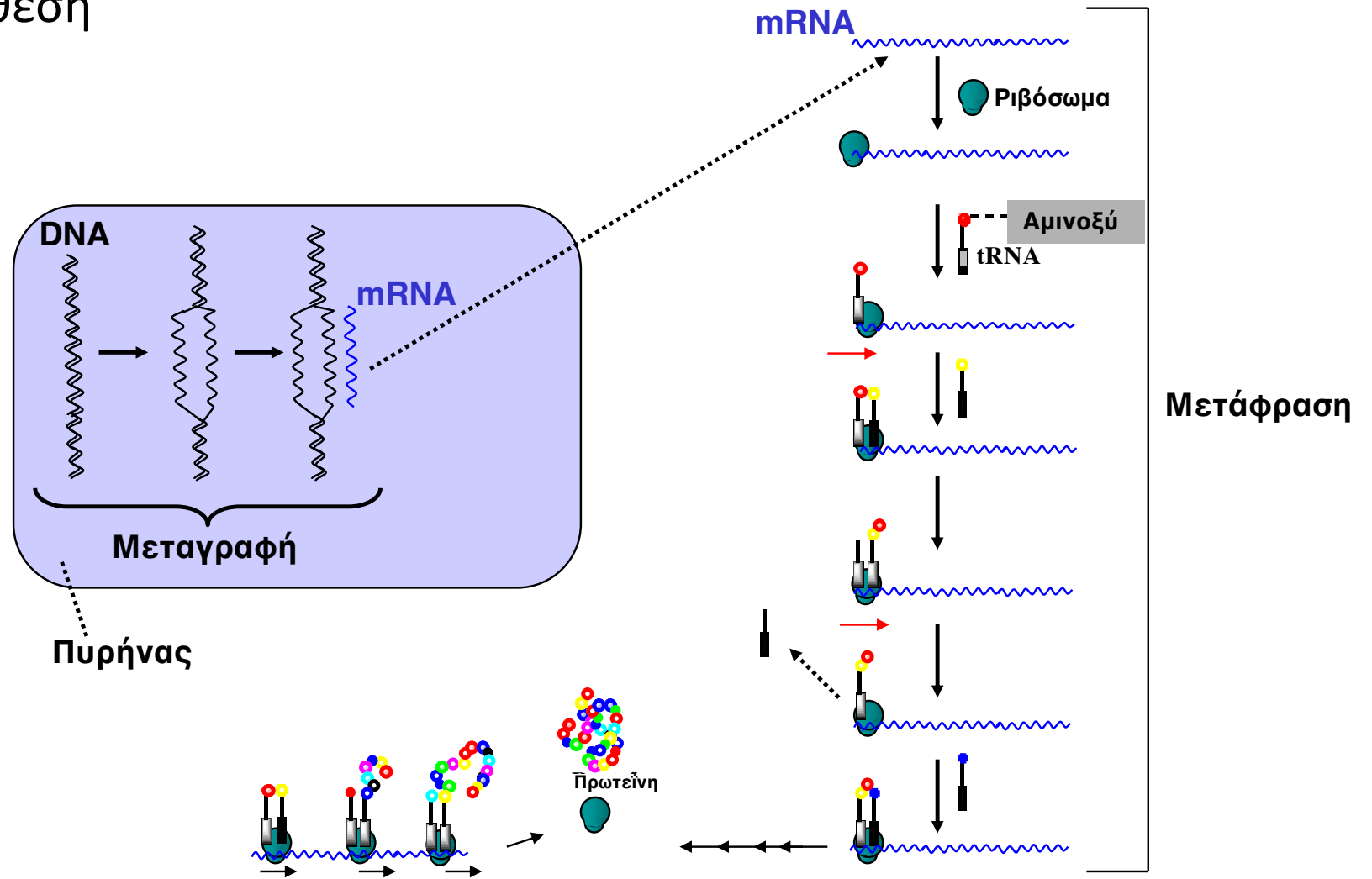
Μηχανισμός μεταφοράς αναπτυσσόμενης πεπτιδικής αλυσίδας στο επόμενο αμινοξύ



6.2 RNA και πρωτεϊνική σύνθεση

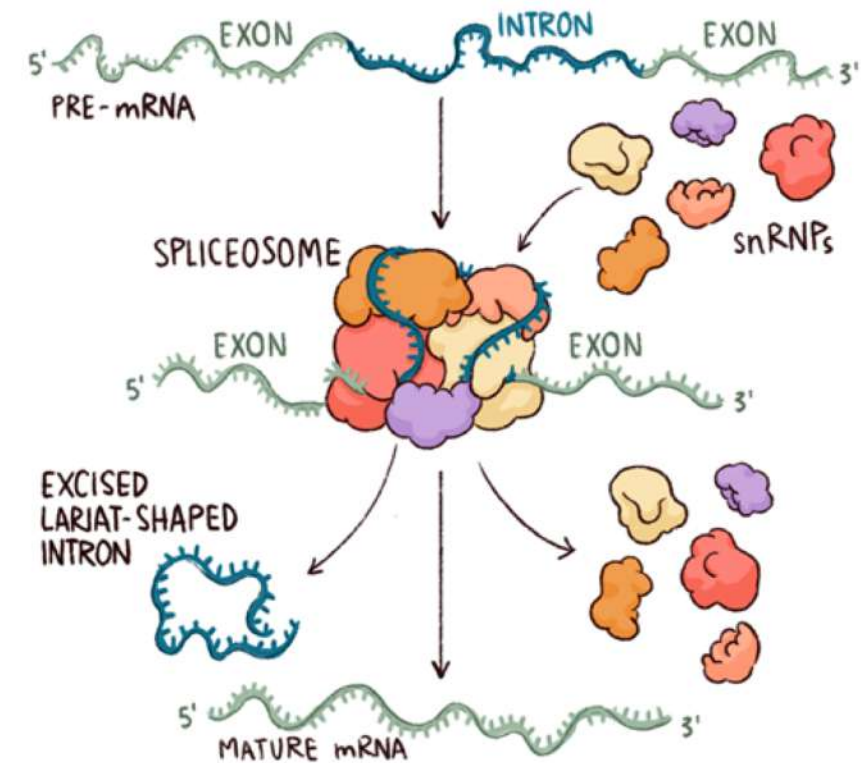
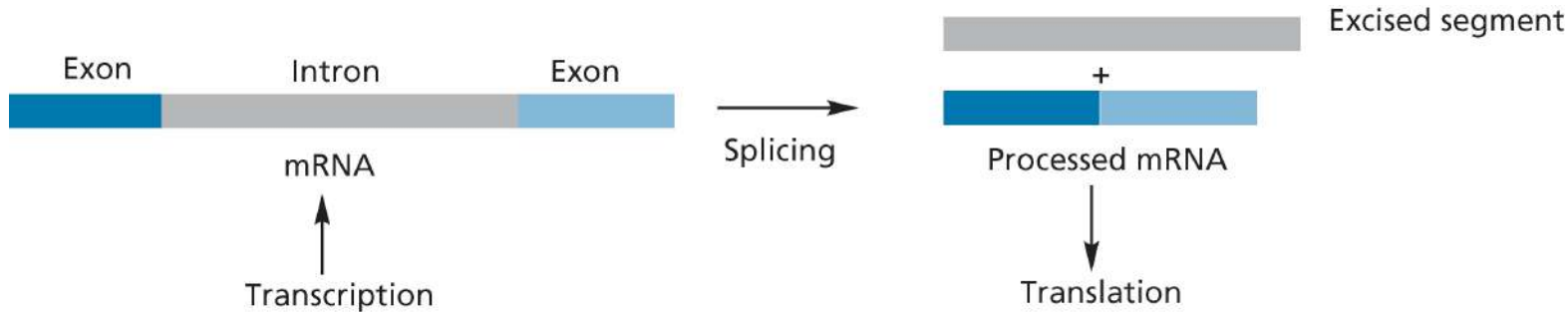
Μετάφραση - πρωτεϊνοσύνθεση

Επισκόπηση



6.2 RNA και πρωτεϊνική σύνθεση

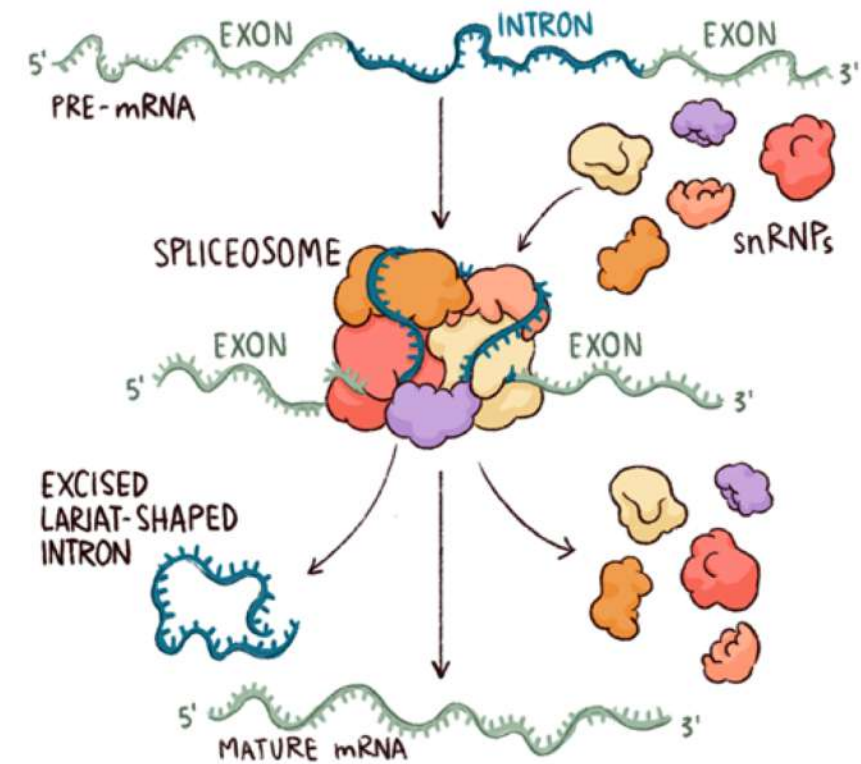
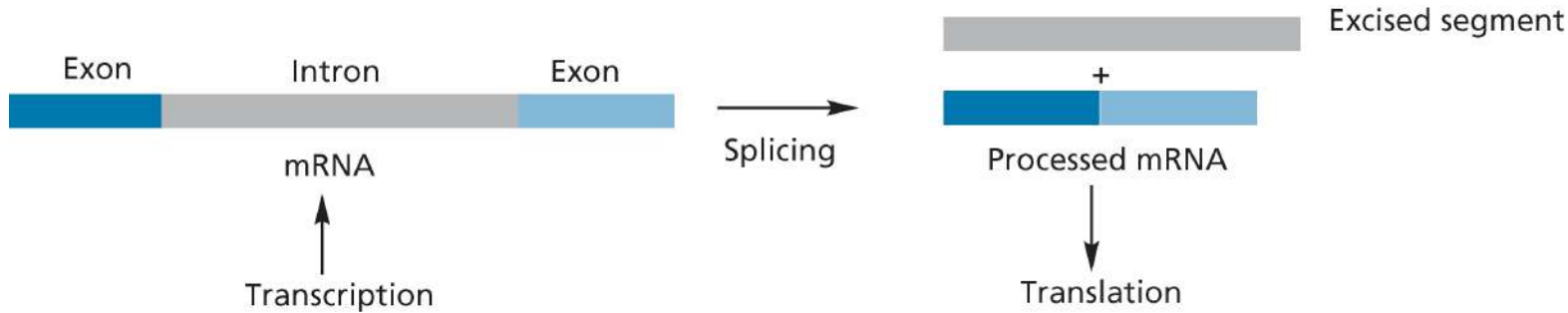
Τροποποιήσεις του mRNA πριν τη μετάφραση



- Οι τροποποιήσεις μπορούν να συμβούν όπου ένα μεσαίο τμήμα (ιντρόνιο) αποκόπτεται
- Τα ακραία τμήματα (εξόνια) ενώνονται στη συνέχεια μεταξύ τους
- Η συναρμογή απαιτεί τη βοήθεια ενός συμπλόκου RNA/πρωτεΐνης που ονομάζεται σωματίδιο συναρμογής (spliceosome)

6.2 RNA και πρωτεϊνική σύνθεση

Τροποποιήσεις του mRNA πριν τη μετάφραση



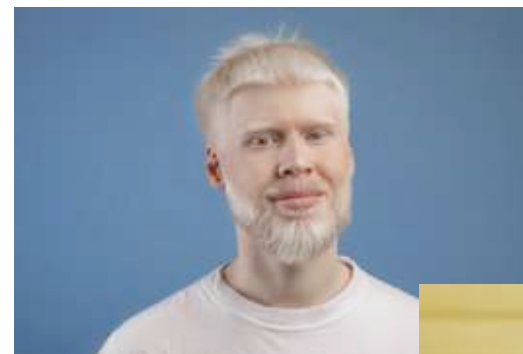
- Το RNA στο σωματίδιο συναρμογής ονομάζεται μικρό πυρηνικό RNA (snRNA)
- Τα snRNAs ευθυγραμμίζουν το mRNA στόχο μέσω δημιουργίας ζευγών βάσεων με αυτό
- Το 15% των γενετικών ασθενειών οφείλεται σε μεταλλάξεις που οδηγούν σε μη σωστή συναρμογή

6.3 Γενετικές ασθένειες

Αδυναμία έκφρασης συγκεκριμένων πρωτεϊνών ή έκφραση ελαττωματικών πρωτεϊνών

Αλφισμός (albinism)

- ανεπάρκεια του ενζύμου τυροσινάση
- σύνθεση της χρωστικής μελανίνης
- έχουν τακτοποιηθεί πάνω από 90 μεταλλάξεις στο γονίδιο της τυροσινάσης, οι οποίες οδηγούν στην έκφραση ανενεργού ενζύμου



6.3 Γενετικές ασθένειες

Αδυναμία έκφρασης συγκεκριμένων πρωτεϊνών ή έκφραση ελαττωματικών πρωτεϊνών

Αιμορροφιλίες (haemophilia)

- κληρονομικές γενετικές ασθένειες
- ένας από τους παράγοντες της πήξης του αίματος είναι ανεπαρκής
- ανεξέλεγκτη αιμορραγία ύστερα από κάποιο τραυματισμό
- σήμερα γίνεται κατάλληλη θεραπεία με παράγοντες πήξης

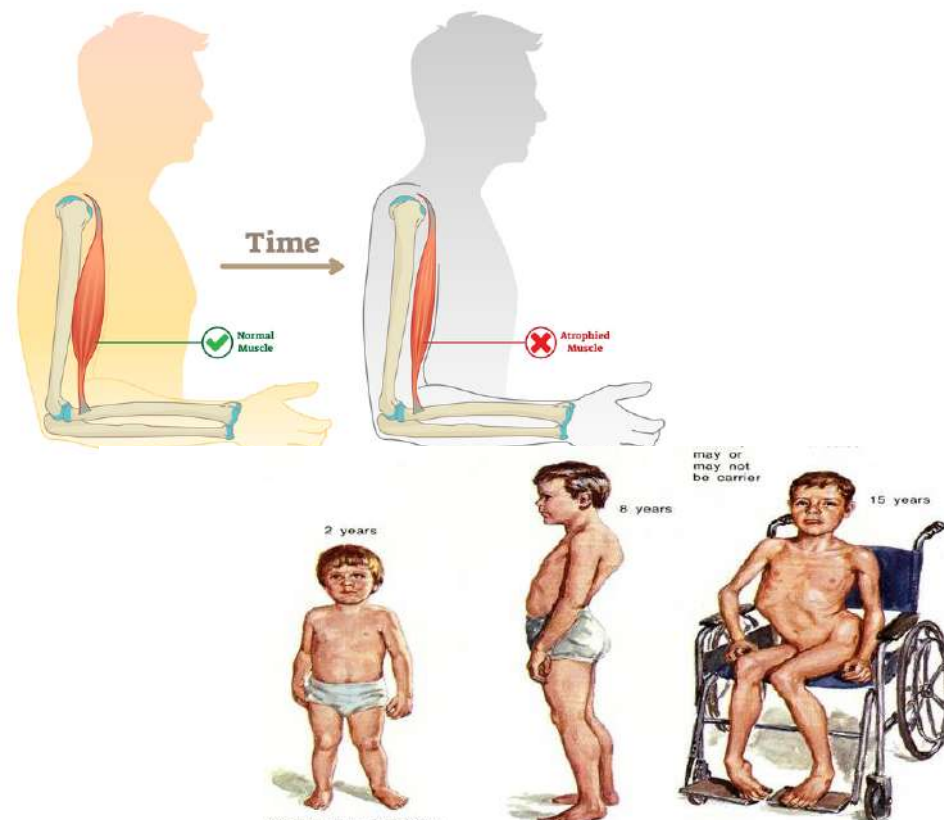


6.3 Γενετικές ασθένειες

Αδυναμία έκφρασης συγκεκριμένων πρωτεϊνών ή έκφραση ελαττωματικών πρωτεϊνών

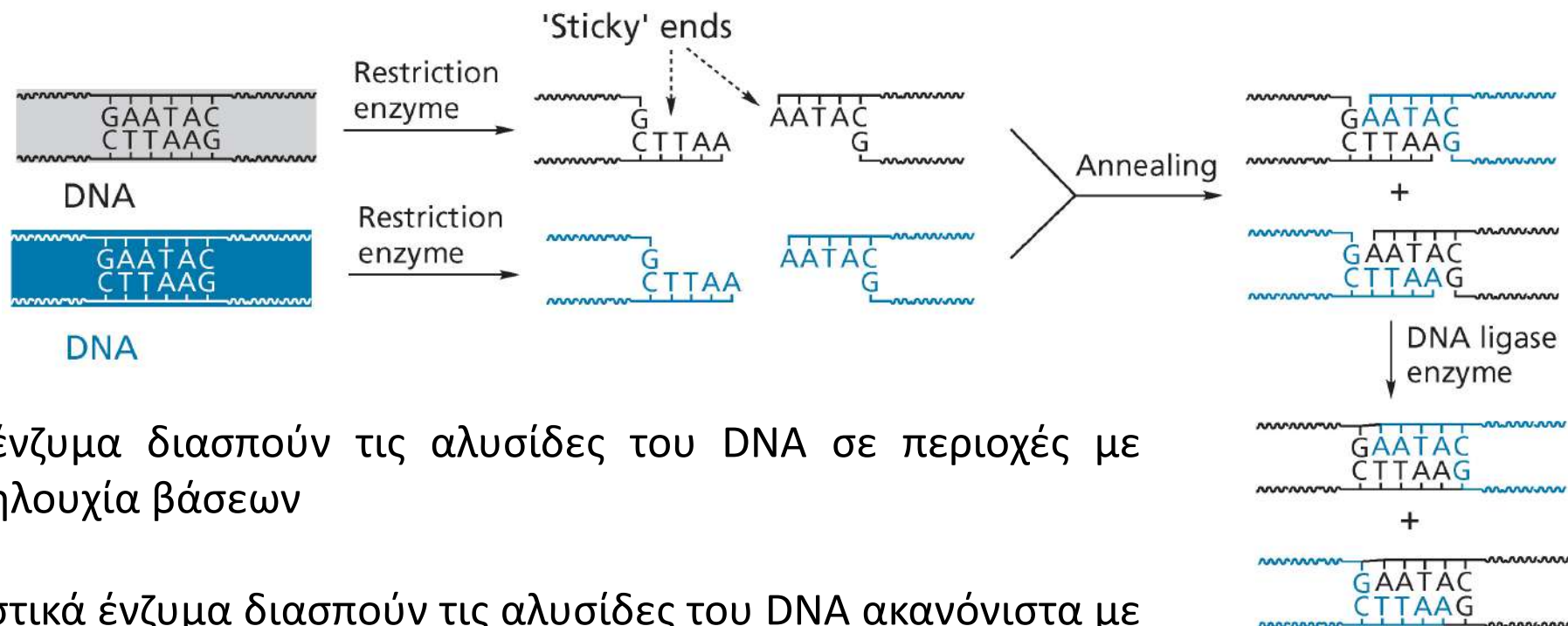
Μυϊκή δυστροφία (muscular dystrophy)

- 1 στους 3500 άνδρες
- απουσία της πρωτεΐνης που ονομάζεται δυστροφίνη
- η δυστροφίνη έχει σημαντικό δομικό ρόλο στα κύτταρα
- η απουσία της οδηγεί και αλλοίωση των μυών



6.4 Μοριακή βιολογία, γενετική μηχανική

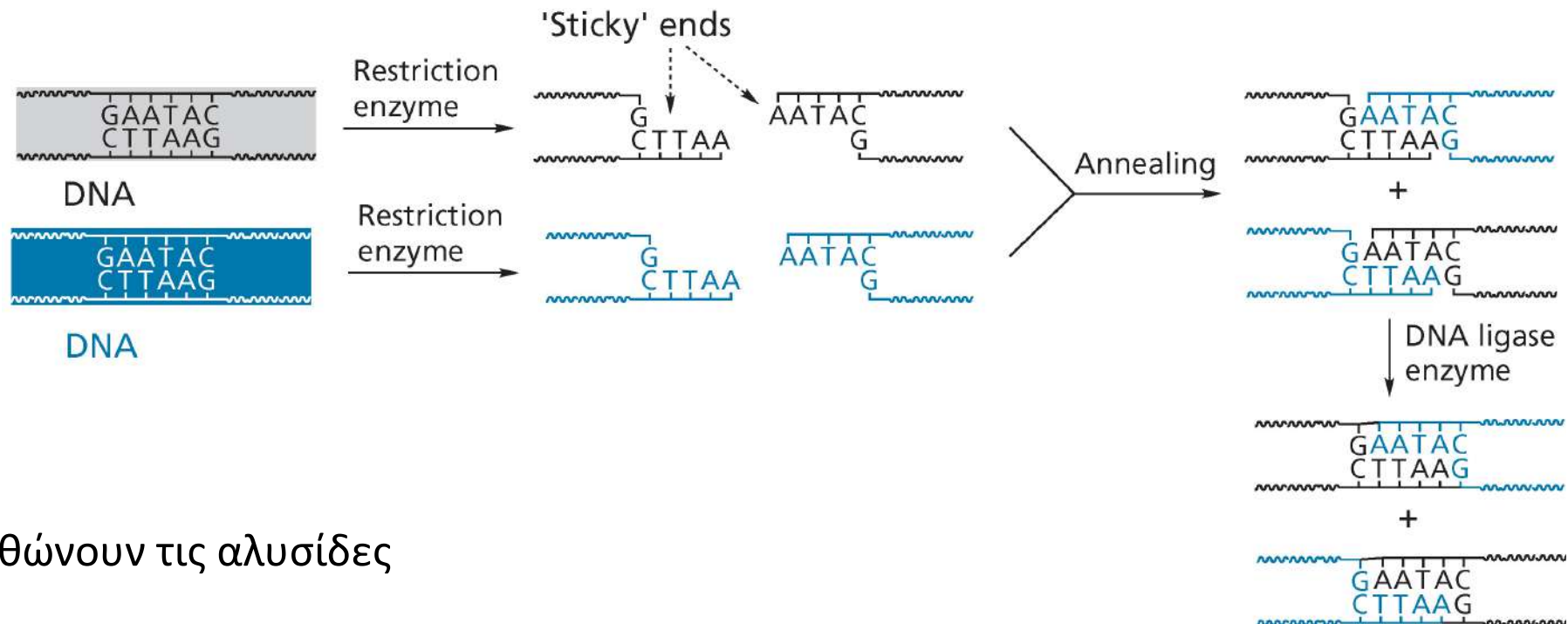
Τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA



- Τα περιοριστικά ένζυμα διασπούν τις αλυσίδες του DNA σε περιοχές με συγκεκριμένη αλληλουχία βάσεων
- Ορισμένα περιοριστικά ένζυμα διασπούν τις αλυσίδες του DNA ακανόνιστα με αποτέλεσμα να προκύπτουν «κολλώδη» άκρα τα οποία επιτρέπουν την υβριδιοποίηση (annealing)

6.4 Μοριακή βιολογία, γενετική μηχανική

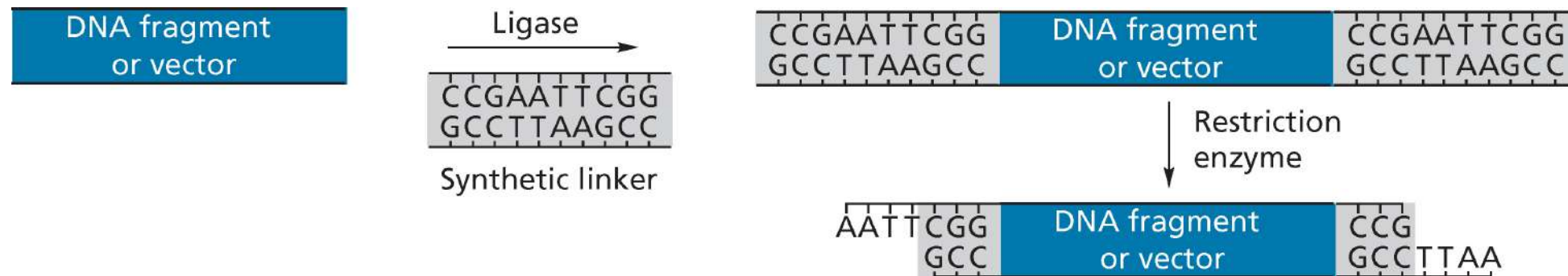
Τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA



- Οι λιγάσες επιδιορθώνουν τις αλυσίδες

6.4 Μοριακή βιολογία, γενετική μηχανική

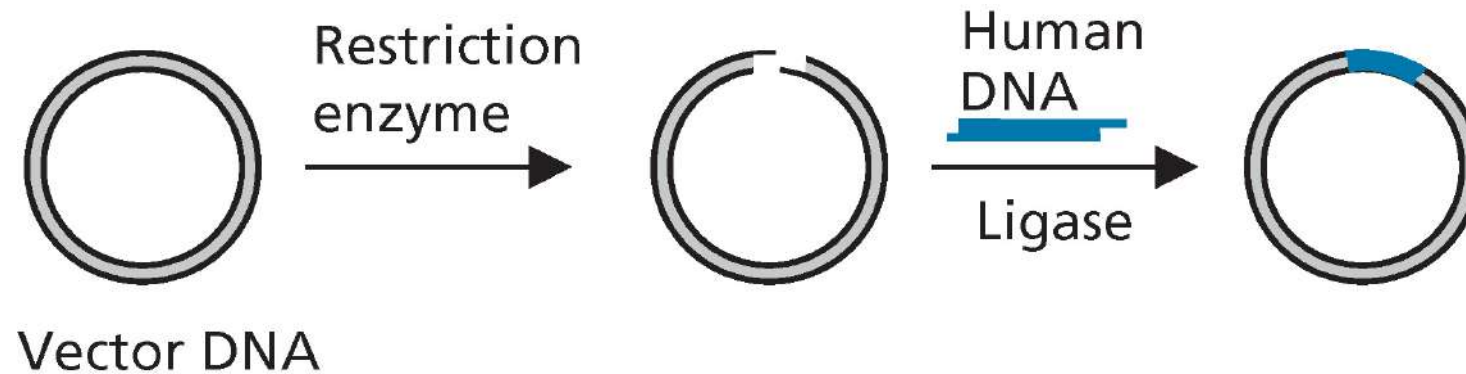
Τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA



- Τμήματα μπορούν να προστεθούν και στα δύο άκρα ενός τμήματος DNA προκειμένου να κάνει το DNA αναγνωρίσιμο στα περιοριστικά ένζυμα

6.4 Μοριακή βιολογία, γενετική μηχανική

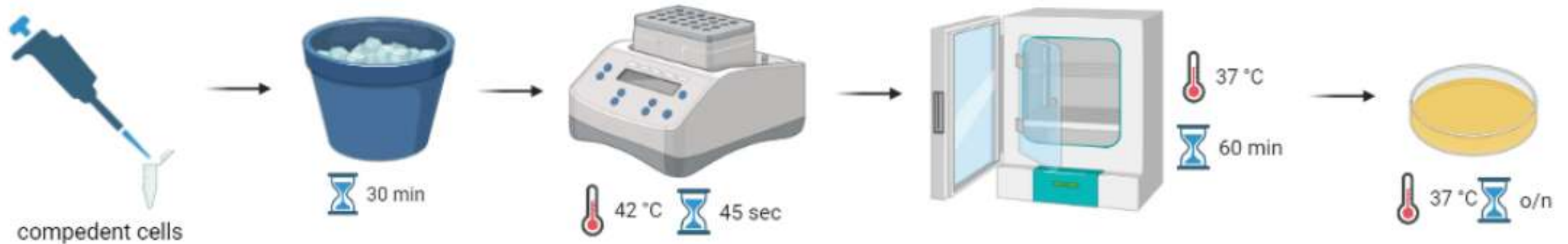
Πολλαπλασιασμός ενός γονιδίου



- Τα πλασμίδια είναι τμήματα κυκλικού DNA που μεταφέρονται μεταξύ βακτηριακών κυττάρων
- Ένα γονίδιο μπορεί να εισαχθεί σε ένα πλασμίδιο
- Τα πλασμίδια εισάγονται στα βακτηριακά κύτταρα και συντίθενται πολλαπλά αντίγραφα τους

6.4 Μοριακή βιολογία, γενετική μηχανική

Πολλαπλασιασμός ενός γονιδίου

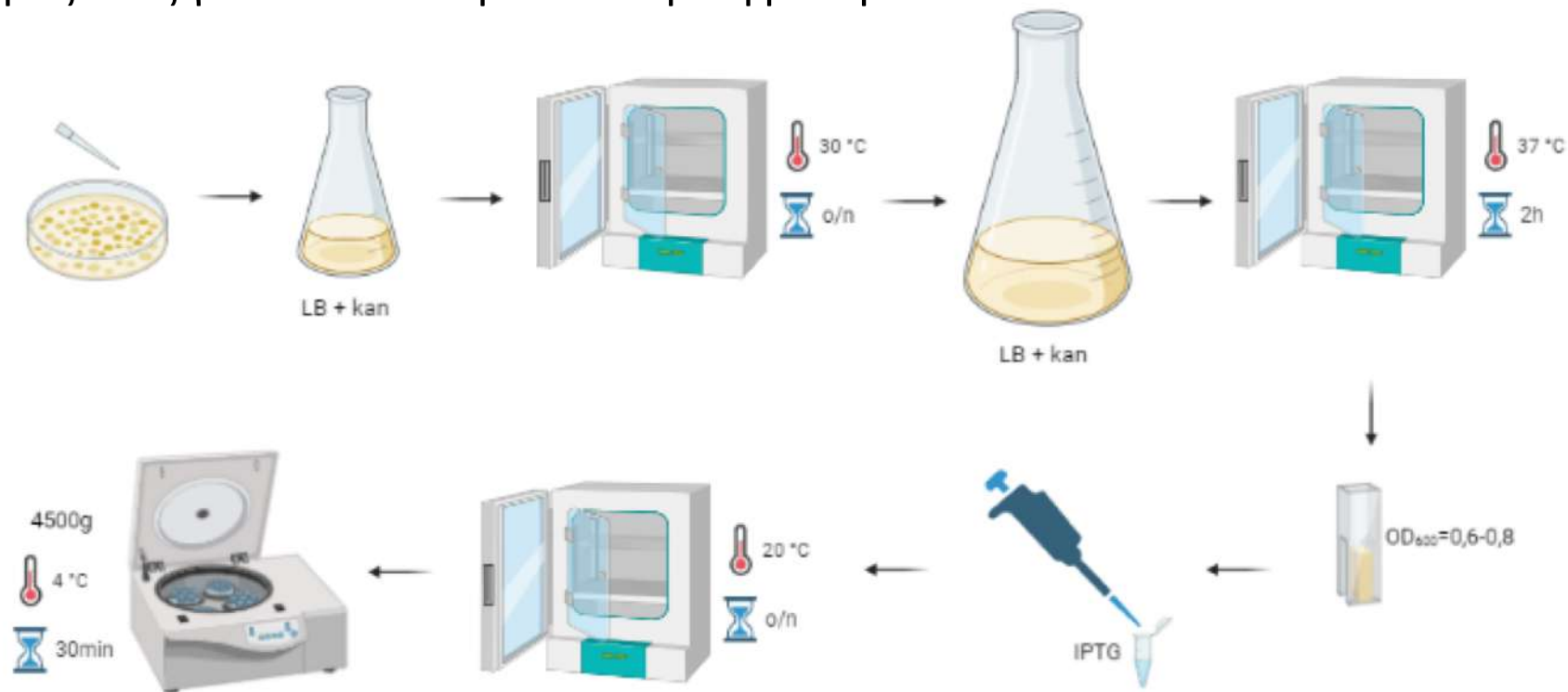


Θα μεγαλώσουν μόνο τα βακτήρια που πήραν το πλασμίδιο;

Πως θα τα ξεχωρίσω;

6.4 Μοριακή βιολογία, γενετική μηχανική

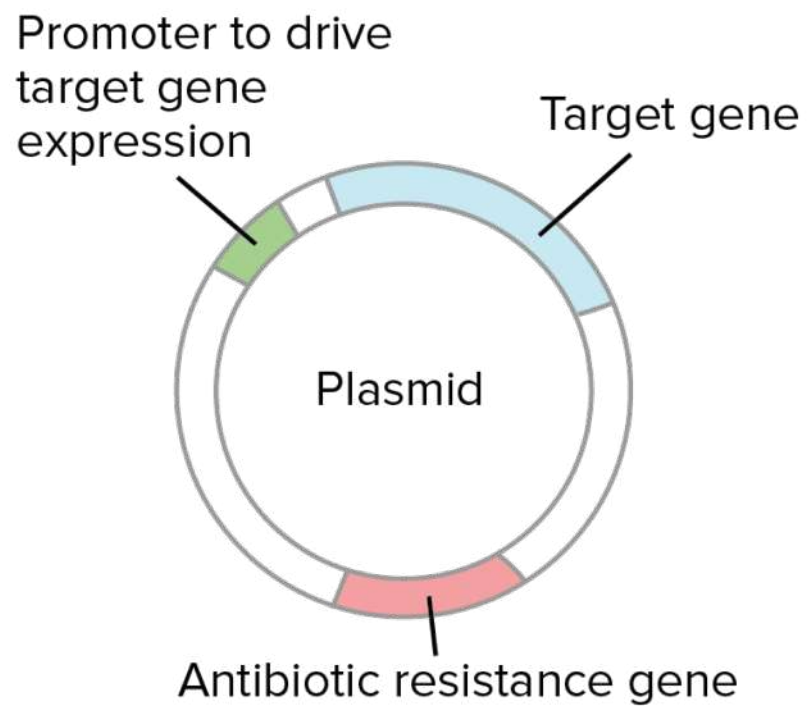
Πολλαπλασιασμός ενός γονιδίου και πρωτεϊνική έκφραση



Πως ξεκινάει η έκφραση της πρωτεΐνης όποτε θέλω εγώ;

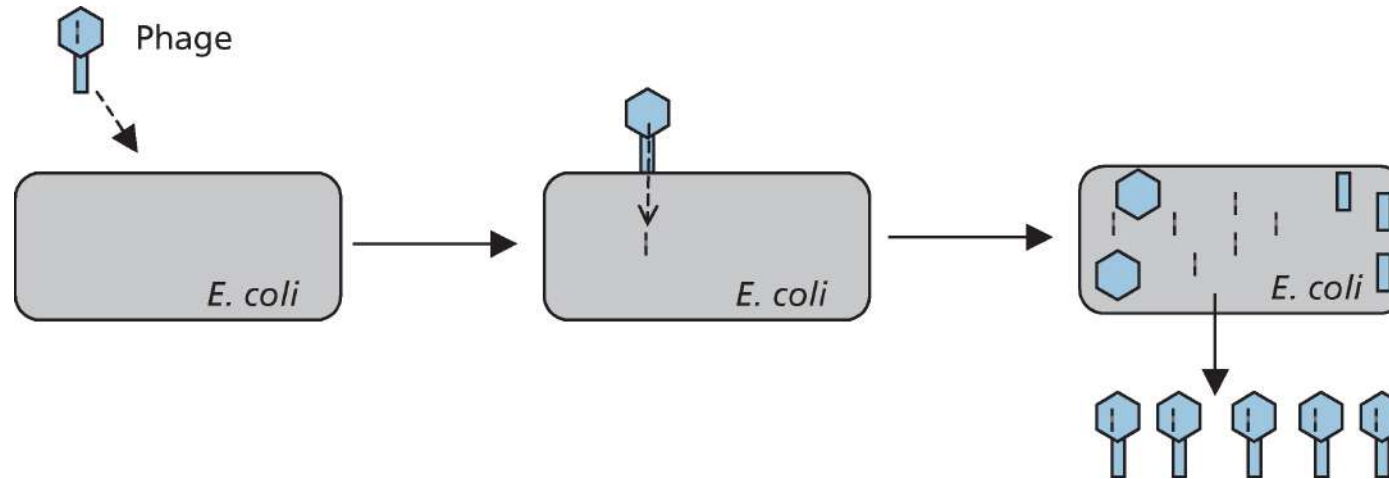
6.4 Μοριακή βιολογία, γενετική μηχανική

Πολλαπλασιασμός ενός γονιδίου και πρωτεϊνική έκφραση



6.4 Μοριακή βιολογία, γενετική μηχανική

Πολλαπλασιασμός ενός γονιδίου



- Ένα γονίδιο μπορεί να εισαχθεί σε έναν βακτηριοφάγο
- Οι βακτηριοφάγοι είναι ιοί που μολύνουν βακτηριακά κύτταρα
- Παράγονται πολλαπλά αντίγραφα του βακτηριοφάγου μαζί με το γονίδιο

6.4 Μοριακή βιολογία, γενετική μηχανική

Εφαρμογές της γενετικής μηχανικής στο πεδίο της ιατρικής

- Συγκομιδή σημαντικών πρωτεϊνών
- Γονιδιωματική και ταυτοποίηση νέων στόχων
- Μελέτη μοριακών μηχανισμών των πρωτεϊνικών στόχων
- Σωματική γονιδιακή θεραπεία

