

Στο πρωτεϊνοσυνθετικό εργοστάσιο του κυττάρου, και ... ένα μικρό «λεξικό».
(Γ' Λυκείου Θετικής Κατεύθυνσης)

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ:

1. Πώς μπορείτε να ελέγξετε εάν ο πρωτεϊνοσυνθετικός μηχανισμός κάποιου βακτηρίου επαρκεί για να συνθέσει μια πρωτεΐνη που απαντά στον άνθρωπο;
.....
.....
.....
2. Πώς σχετίζεται ένα κωδικόνιο με το αντίστοιχο αντικωδικόνιό του;
.....
.....
.....
3. Δύο αδελφοί δίδυμοι, κτηνοτρόφοι και οι δύο, ο Περικλής και ο Μιλτιάδης, κάτοικοι νησιού της άγονης γραμμής, προσβάλλονται με διαφορά ημερών, από κάποιο παθογόνο βακτήριο, πιθανότατα το ίδιο και στους δύο άντρες. Πηγαίνουν στον αγροτικό γιατρό του νησιού τους, και εκείνος χορηγεί ισχυρή δόση χλωραμφενικόλης στον Μιλτιάδη. Σε διάστημα λίγων ημερών, ο Μιλτιάδης ανέρρωσε. Στο αγροτικό ιατρείο, όμως, το εν λόγω αποτελεσματικό αντιβιοτικό είχε τελειώσει, οπότε ο γιατρός πήρε την απόφαση να ανακουφίσει τον επίσης πάσχοντα Περικλή με κυκλοεξιμίδη— καθώς αυτό ήταν το μοναδικό αντιβιοτικό που είχε μείνει άθικτο στο «οργανωμένο» ιατρείο του νησιού. Ο Περικλής, ωστόσο, την ίδια κιόλας μέρα που ξεκίνησε τη θεραπεία με το αντιβιοτικό, απεβίωσε αργά τη νύχτα. Ο βιολόγος του σχολείου είπε σε συζήτηση της κοινότητας, ότι και τα δυο αντιβιοτικά αναστέλλουν ισχυρά την πρωτεϊνοσύνθεση των βακτηρίων, ο δε συνταξιούχος φαρμακοποιός, κάτοικος κι αυτός του νησιού, ότι η κυκλοεξιμίδη δεν (είναι δυνατόν να) διατίθεται σε ασθενείς. Τελικά, γιατί πέθανε ο Περικλής; Ήταν αλλεργική αντίδραση, όπως θα ισχυριστεί ο άπειρος αγροτικός γιατρός, ή κάτι άλλο έφταιξε;
.....
.....
4. Κάποιο μόριο tRNA φέρει το αντικωδικόνιο 3' AUG5'.
(α) Με ποιο κωδικόνιο αλληλεπιδρά;
(β) Ποιο αμινοξύ μεταφέρεται από το εν λόγω μόριο tRNA;
(γ) Λόγω της αστάθειας, το αντικωδικόνιο αυτό μπορεί να αλληλεπιδράσει και με άλλα κωδικόνια. Ποια είναι αυτά, και ποια αμινοξέα κωδικεύουν;
.....
.....
(δ) Μήπως η αστάθεια με κάποιο τρόπο αλλάζει το αμινοξύ που είναι φορτωμένο σε ένα συγκεκριμένο μόριο tRNA; Ή μήπως αλλάζει το αμινοξύ που καθορίζεται από ένα κωδικόνιο; Τι επακριβώς αλλάζει λόγω αστάθειας;
.....
.....

5. Η σύνδεση των αμινοξέων στην επιμηκυνόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα κατά τη μετάφραση περιλαμβάνει έναν κύκλο γεγονότων επαναλαμβανόμενο με κάθε προστιθέμενο αμινοξύ. Ποια τα καθοριστικά γεγονότα σε έναν τέτοιο κύκλο;

.....

.....

.....

.....

.....

.....

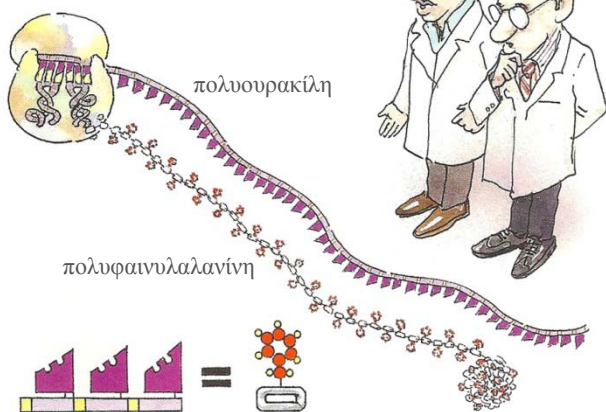
6. Μελετήστε το απόσπασμα αμέσως παρακάτω, και διερευνήστε τα ακόλουθα ερωτήματα:

Η αποκρυπτογράφηση του γενετικού κώδικα

Το 1961, ο Marshall Nirenberg και ο Johann Matthaei, δύο νεαροί βιοχημικοί, εργαζόμενοι στο Εθνικό Αντικαρκινικό Ινστιτούτο της Βηθεσδά στο Μέριλαντ των ΗΠΑ, προχώρησαν σε μια σημαντική ανακάλυψη. Μολονότι δεν είχε ακόμη φτάσει στα αυτιά

τους η ανακάλυψη του mRNA στη Βρετανία και στη Γαλλία, αναζητούσαν και αυτοί κάτι συναφές: κάποια ενδεικτικά στοιχεία σχετικά με το ότι ένας τύπος RNA ίσως προγραμματίζει τα ριβοσώματα να κατασκευάζουν πρωτεΐνες. Έπαιρναν λοιπόν ποικίλα δείγματα RNA, και τα συνεπώαζαν με ριβοσώματα βακτηριακής προέλευσης, μαζί με κατάλληλα ενεργοποιητικά ένζυμα, ATP, μόρια μεταφορικών RNA, και μείγματα αμινοξέων. Τους ενδιέφερε να δουν κατά πόσο κάποιο από τα RNA είχε την ικανότητα να διεγείρει τη σύνθεση πρωτεΐνης. Τα αποτελέσματά τους δεν ήταν και πολύ ενθαρρυντικά, έως ότου τυχαία προσέθεσαν ένα συνθετικό μόριο RNA, το πολυουριδυλικό οξύ (U-U-U-U-...)- αλυσίδες αποτελούμενες από ένα

«Το συμπέρασμα αναπόδραστο...»



«μια τριπλέτα από U = φαινυλαλανίνη»

νουκλεοτίδιο που έφερε ως αζωτούχο βάση την ουρακίλη, και τα νουκλεοτιδικά μονομερή να συνδέονται μεταξύ τους όπως στο φυσικό RNA. Ήταν απίστευτο! Τα ριβοσώματα διάβαζαν «υπάκουα» τις αλυσίδες με το πολυ-U, και τις μετάφραζαν σταθερά προς την τεχνητή «πρωτεΐνη» πολυφαινυλαλανίνη, δηλ. μακριές αλυσίδες που περιείχαν το ένα και μοναδικό αμινοξύ φαινυλαλανίνη. Το συμπέρασμα ήταν αναπόδραστο: Η τριπλέτα για την φαινυλαλανίνη πρέπει να είναι η UUU.

Εξαιρετικό, μάλιστα, ενδιαφέρον είχε μια γενικότερη απόρροια του προηγούμενου: Εάν τα ριβοσώματα είναι σε θέση να μεταφράζουν μόρια RNA με οποιαδήποτε αλληλουχία νουκλεοτιδίων σε πρωτεΐνη, τότε θα μπορούσε κανείς να επωάζει μόρια RNA γνωστής νουκλεοτιδικής αλληλουχίας, και να περιμένει να δει τι αλληλουχία αμινοξέων μπορεί να προκύψει από αυτά. Εδώ, λοιπόν, βρισκόταν και η λύση στον γενετικό κώδικα! Ο Nirenberg και ο Matthaei τότε «πήραν φόρα», όπως και όσοι άλλοι είχαν πληροφορηθεί την ανακάλυψή τους. Ακολούθησε ένας φρενήρης οργανισμός πειραμάτων, και μέχρι το 1965 είχαν αναγνωριστεί όλες οι 61 κωδικές τριπλέτες για τα 20 αμινοξέα.

[πηγή κειμένου και συνοδευτικής εικόνας: *Exploring the Way Life Works, The Science of Biology*, Mahlon Hoagland, Bert Dodson και Judith Hauck, (2001) Jones and Bartlett Publishers, Inc.]

Για την ιστορικής σημασίας εργασία του σχετικά με τον γενετικό κώδικα, ο Nirenberg βραβεύθηκε το 1968 με το βραβείο Νομπέλ στη Φυσιολογία ή Ιατρική. Μοιράστηκε δε το βραβείο με τους Har Gobind Khorana (από το Πανεπιστήμιο του Γουισκόνσιν, ΗΠΑ) και Robert W. Holley (Ινστιτούτο Salk, ΗΠΑ), διότι ο μεν πρώτος κατείχε πλήρως τη σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων *in vitro* (ολιγονουκλεοτιδίων), ο δε δεύτερος είχε ανακαλύψει την ακριβή χημική δομή του tRNA.

[περισσότερα στο http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1968/nirenberg-or.html]

Μία από τις τεχνικές που εφαρμόστηκαν κατά κόρον για την αποκρυπτογράφηση του γενετικού κώδικα ήταν η σύνθεση πολυπεπτιδίων *in vitro* μέσω συνθετικών μορίων mRNA τα οποία έφεραν επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες αζωτούχων βάσεων— όπως λ.χ. την $(AGA)_n$, η οποία αντιστοιχεί στο πολυμερές AGAAGAAGAAGA... . Κάποιες φορές το συντιθέμενο πολυπεπτίδιο περιείχε μόνο ένα αμινοξύ [αοξ] (ομοπολυμερές), και άλλες φορές περισσότερα από ένα αμινοξέα (ετεροπολυμερές), αναλόγως με την επαναλαμβανόμενη αλληλουχία που εχρησιμοποιείτο. Επιπλέον, δεν ήταν απίθανο ενίοτε, από το ίδιο συνθετικό μόριο mRNA να προκύπτουν διαφορετικά πολυπεπτίδια, που σήμαινε ότι η έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης στο σύστημα *in vitro* δεν ξεκινούσε πάντα από το ακραίο νουκλεοτίδιο του αγγελιαφόρου μορίου. Από την $(AGA)_n$, επί παραδείγματι, θα μπορούσαν να συντίθενται τρία (3) πολυπεπτίδια: το ομοπολυμερές αοξ₁ (συντομευμένα, αοξ₁-αοξ₁), το ομοπολυμερές αοξ₂ (αοξ₂-αοξ₂), και το ομοπολυμερές αοξ₃ (αοξ₃-αοξ₃). Τα πολυπεπτίδια αυτά θα μπορούσαν κάλλιστα να αντιστοιχούν στις παρακάτω αναγνώσεις του συνθετικού μορίου mRNA, όπου η αφετηρία της ανάγνωσης καταλαμβάνει διαφορετική θέση μέσα στην αλληλουχία:

AGA AGA AGA AGA
GAA GAA GAA GAA
AAG AAG AAG AAG

Στον έγχρωμο πίνακα που αναπτύσσεται εδώ αριστερά, παρουσιάζονται τα πραγματικά αποτελέσματα που συγκέντρωσε ο Khorana από τα πειράματά του:

Συνθετικό μόριο mRNA	Πολυπεπίδι-ο/-α που παρήχθη/-σαν
$(UG)_n$	(Ser-Leu)
$(UG)_n$	(Val-Cys)
$(AC)_n$	(Thr-His)
$(AG)_n$	(Arg-Glu)
$(UUC)_n$	(Ser-Ser) και (Leu-Leu) και (Phe-Phe)
$(UUG)_n$	(Leu-Leu) και (Val-Val) και (Cys-Cys)
$(AAG)_n$	(Arg-Arg) και (Lys-Lys) και (Glu-Glu)
$(CAA)_n$	(Thr-Thr) και (Asn-Asn) και (Gln-Gln)
$(UAC)_n$	(Thr-Thr) και (Leu-Leu) και (Tyr-Tyr)
$(AUC)_n$	(Ile-Ile) και (Ser-Ser) και (His-His)
$(GUA)_n$	(Ser-Ser) και (Val-Val)
$(GAU)_n$	(Asp-Asp) και (Met-Met)
$(UAUC)_n$	(Tyr-Leu-Ser-Ile)
$(UUAC)_n$	(Leu-Leu-Thr-Tyr)
$(GAUA)_n$	Τίποτα
$(GUAA)_n$	Τίποτα

Σημ.: Η σειρά με την οποία καταχωρίζονται στον πίνακα τα πολυπεπτίδια ή τα αμινοξέα δεν έχει σημασία, εξαιρουμένων των $(UAUC)_n$ και $(UUAC)_n$.

(α) Γιατί τα $(GUA)_n$ και $(GAU)_n$ κωδικοποιούν το καθένα μόνο δύο ομοπολυπεπτίδια;

(β) Για ποιο λόγο τα $(GAUA)_n$ και $(GUUA)_n$ δεν παράγουν κάτι;

(γ) Προσπαθήστε να αντιστοιχήσετε ένα αμινοξύ σε καθεμία από τις τριπλέτες της λίστας στην επόμενη σελίδα. Έχετε κατά νου ότι ο κώδικας διαθέτει συνώνυμα κωδικόνια (αντιστοιχούν στο ίδιο αμινοξύ), και ότι τα δύο πρώτα γράμματα σε ένα κωδικόνιο είναι συνήθως τα σημαντικά (σποραδικά το 3^ο). Επίσης, ότι, ενίοτε, τα συνώνυμα κωδικόνια ορισμένων αμινοξέων μπορεί να είναι πολύ διαφορετικά μεταξύ τους.

AUG	GAU	UUG	AAC
GUG	UUC	UUA	CAA
GUU	CUC	AUC	AGA
GUA	CUU	UAU	GAG
UGU	CUA	UAC	GAA
CAC	UCU	ACU	UAG
ACA	AGU	AAG	UGA

Για την επίλυση αυτού του προβλήματος, απαιτείται απλή λογική (δεν έχει νόημα να καταφύγετε στον έτοιμο πίνακα του γενετικού κώδικα). Σκεφτείτε μόνο ότι ο Khorana βραβεύτηκε με νομπέλ, αφού κατόρθωσε να δώσει τη λύση.

Καλή σας ειδικότητα!!!

[το πρόβλημα αυτό προέρχεται από το *Genetics: Questions and Problems* των J. Kuspira και G.W. Walker, McGraw-Hill, 1973]