



Κατατακτήριες Οδοντιατρικής 2020

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο

Βιολογία, Μάιος 2021

Θέμα 1^ο : Ποιος είναι ο ρόλος των κεντροσωματίων;

Στα κύτταρα, οι μικροσωληνίσκοι εξορμώνται από εξειδικευμένα κέντρα οργάνωσης τα οποία ελέγχουν τον αριθμό, την εντόπιση και τον προσανατολισμό τους στο κυτταρόπλασμα. Στα ζωικά κύτταρα, για παράδειγμα, το κεντροσωμάτιο που κατά τη μεσόφαση, συνήθως εντοπίζεται κοντά στον πυρήνα, οργανώνει τη συστοιχία των μικροσωληνίσκων που απλώνονται ακτινωτά προς όλο το κυτταρόπλασμα. Το κεντροσωμάτιο περιέχει ένα ζεύγος κεντριδίων τα οποία περιβάλλονται από ένα δίκτυο πρωτεϊνών. Το δίκτυο του κεντροσωματίου περιέχει εκατοντάδες δομές σε σχήμα δακτυλίου που αποτελούνται από μια πρωτεΐνη, τη γ-τουμπουλίνη. Κάθε δακτύλιος γ-τουμπουλίνης χρησιμεύει ως θέση εκκίνησης ή όπως αλλιώς λέγεται ως θέση εμπυρήνωσης για την ανάπτυξη ενός μικροσωληνίσκου. Τα διμερή αβ-τουμπουλίνης προστίθενται στο δακτύλιο της γ-τουμπουλίνης με ειδικό προσανατολισμό με αποτέλεσμα το (-) άκρο κάθε μικροσωληνίσκου να ενσωματώνεται στο κεντροσωμάτιο και η ανάπτυξη να γίνεται μόνο από (+) άκρο του που επεκτείνεται στο κυτταρόπλασμα. Τα ζευγαρωμένα κεντρίδια στο κέντρο ενός κεντροσωματίου ζωικού κυττάρου διευθετούνται κάθετα το ένα προς το άλλο και αποτελούνται από μία κυλινδρική συστοιχία κοντών μικροσωληνίσκων. Τα κεντριδία δεν παίζουν κανένα ρόλο κατά την εμπυρήνωση των μικροσωληνίσκων στο κεντροσωμάτιο. Για τον πολυμερισμό των μικροσωληνίσκων αρκούν μόνο οι δακτύλιοι της γ-τουμπουλίνης. Η λειτουργία των κεντριδίων δεν είναι ξεκάθαρη μάλιστα τα φυτικά κύτταρα δεν περιέχουν κεντριδία. Η οργάνωσή τους είναι παρόμοια, αν όχι πανομοιότυπη, με τα βασικά σωματίδια που σχηματίζουν τα κέντρα οργάνωσης των μικροσωληνίσκων στους κροσσούς.

Προτού αρχίσει η φάση M του κυτταρικού κύκλου θα πρέπει να πραγματοποιηθούν δύο κρίσιμα συμβάντα. Πρώτον, θα πρέπει να έχει ολοκληρωθεί η αντιγραφή του DNA και στα ζωικά κύτταρα θα πρέπει να έχει διπλασιαστεί το κεντροσωμάτιο.

Το κεντροσωμάτιο όπως αναφέρθηκε νωρίτερα είναι το κύριο κέντρο οργάνωσης των μικροσωληνίσκων στα ζωικά κύτταρα. Ο διπλασιασμός του είναι απαραίτητος ώστε να σχηματιστούν οι δύο πόλοι της μιτωτικής ατράκτου

και παράλληλα κάθε θυγατρικό κύτταρο να αποκτήσει το δικό του κεντροσωμάτιο. Ο διπλασιασμός των κεντροσωματίων αρχίζει ταυτόχρονα με την αντιγραφή του DNA και ενεργοποιείται από τις ίδιες Cd κινάσες που πυροδοτούν την αντιγραφή (G1-S/Cdk και S/Cdk). Αρχικά όταν το κεντροσωμάτιο διπλασιάζεται τα δύο αντίγραφα παραμένουν ως ενιαίο σύμπλοκο στη μία πλευρά του πυρήνα. Καθώς ξεκινάει η μίτωση τα δύο κεντροσωμάτια διαχωρίζονται και το καθένα οργανώνει το σχηματισμό ενός ακτινωτού στεφάνου μικροσωληνίσκων που ονομάζεται **αστέρας**. Οι δύο αστέρες μετακινούνται στις αντίθετες πλευρές του πυρήνα ώστε να σχηματίσουν τους δύο πόλους της μητρικής ατράκτου. Η διεργασία του διπλασιασμού και διαχωρισμού του κεντροσωματίου είναι γνωστή ως **κύκλος του κεντροσωματίου**.

Θέμα 2^ο: Τι είναι οι κασπάσες και ποιος ο ρόλος τους;

Τα κύτταρα ενός πολυκυττάρου οργανισμού είναι εξειδικευμένα μέλη μιας πολύ οργανωμένης κοινότητας και ο πολλαπλασιασμός τους πρέπει να ελέγχεται με ρύθμιση της συχνότητας όχι μόνο της κυτταρικής διαίρεσης αλλά και του κυτταρικού θανάτου. Όταν τα κύτταρα πάψουν να είναι απαραίτητα, αυτοκτονούν ενεργοποιώντας ένα ενδοκυττάριο πρόγραμμα γνωστό ως προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος. Στα ζώα η πιο συνηθισμένη μορφή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου καλείται **απόπτωση**. Η απόπτωση είναι εντυπωσιακά διαδεδομένη τόσο στους αναπτυσσόμενους όσο και στους ενήλικους ζωικούς ιστούς.

Ένα κύτταρο που υφίσταται απόπτωση, σε αντίθεση με ένα κύτταρο που πεθαίνει από οξεία βλάβη μία διεργασία γνωστή ως κυτταρική νέκρωση, πεθαίνει ήσυχα χωρίς να παραβλάπτει τους γείτονές του και χωρίς να δημιουργεί φλεγμονή. Το κύτταρο αναπτύσσει ακανόνιστα εξογκώματα στην επιφάνεια του αλλά στη συνέχεια συρρικνώνεται, συμπυκνώνεται, ο κυτταροσκελετός καταρρέει, το πυρηνικό περίβλημα αποσυναρμολογείται και το DNA του πυρήνα θρυμματίζεται σε μικρά κλάσματα. Ιδιαίτερα σημαντικό είναι το γεγονός ότι η κυτταρική επιφάνεια του κυττάρου που πεθαίνει τροποποιείται και εκδηλώνει ιδιότητες που προσελκύουν φαγοκύτταρα χωρίς καμία διαρροή των συστατικών του. Ο μοριακός μηχανισμός που ευθύνεται για την απόπτωση φαίνεται ότι είναι παρόμοιος στα περισσότερα ζωικά κύτταρα περιλαμβάνει μία οικογένεια πρωτεάσεων, οι οποίες καλούνται **κασπάσες**. Οι κασπάσες παράγονται ως ανενεργά πρόδρομα μόρια (**προκασπάσες**) που ενεργοποιούνται σε απάντηση προς διάφορα σήματα που επάγουν απόπτωση. Δύο κλάσματα που έχουν προκύψει από την πρωτεολυτική διάσπαση δύο μορίων προκασπάσης συνδέονται και σχηματίζουν μία ενεργή κασπάση, η οποία αποτελείται από δύο μικρές και δύο μεγάλες υπομονάδες. Κάθε

ενεργοποιημένο μορίο πρωτεάσης διασπά και έτσι ενεργοποιεί άλλα μόρια προενζύμου που στη συνέχεια θα ενεργοποιήσουν ακόμα περισσότερα μόρια πρωτεάσης.

Δύο τύποι κασπασών συνεργάζονται για να διασπάσουν ένα κύτταρο: οι **εναρκτήριοι κασπάσες** που πρωτεολύουν και έτσι ενεργοποιούν τις **εκτελεστικές κασπάσες**. Στη συνέχεια ορισμένες από αυτές τις εκτελεστικές κασπάσες ενεργοποιούν άλλους τελεστές με αποτέλεσμα την ενίσχυση της πρωτεολυτικής ακολουθίας, ενώ άλλες διασπούν βασικές πρωτεΐνες του κυττάρου. Έτσι, η αρχική ενεργοποίηση λίγων μορίων κασπασών οδηγεί σε εκρηκτική ενεργοποίηση πολλών μορίων του ενζύμου. Ορισμένες ενεργοποιημένες πρωτεάσες αποδομούν καίριες πρωτεΐνες του κυττάρου π.χ. τις λαμίνες του πυρήνα και προκαλούν ελεγχόμενο θάνατο του κυττάρου.

Η ενεργοποίηση της απόπτωσης, όπως και η είσοδος σε ένα στάδιο του κυτταρικού κύκλου συνήθως έχει χαρακτήρα «όλου ή μηδενός». Η πρωτεολυτική ακολουθία είναι καταστροφική, αυτοενισχυόμενη και μη αντιστρεπτή. Μόλις το κύτταρο φτάσει σε ένα κρίσιμο σημείο στην οδό προς την καταστροφή του δεν υπάρχει γυρισμός, συνεπώς η απόφαση για απόπτωση ελέγχεται αυστηρά από το κύτταρο.

Θέμα 3^ο: Πότε και πώς λειτουργεί το οπερόνιο της λακτόζης;

Τα απλούστερα και πιο κατανοητά παραδείγματα ρύθμισης γονιδίων τα συναντάμε στα βακτήρια και στους ιούς που τα μολύνουν. Το γονιδίωμα του βακτηρίου *E.coli* αποτελείται από ένα κυκλικό μόριο DNA που κωδικοποιεί περίπου 4.300 πρωτεΐνες. Ωστόσο σε κάθε δεδομένη χρονική στιγμή παράγεται μόνο ένα κλάσμα αυτών των πρωτεϊνών. Το *E.coli* ρυθμίζει την έκφραση πολλών γονιδίων του σύμφωνα με τις διαθέσιμες πηγές τροφής στο περιβάλλον. Για παράδειγμα τρία γονίδια του *E.coli* κωδικοποιούν πρωτεΐνες που επιτρέπουν την απορρόφηση και τον καταβολισμό του δισακχαρίτη λακτόζη. Η διαθεσιμότητα της λακτόζης αλλά και του εναλλακτικού μεταβολικού υποστρώματος της γλυκόζης είναι αυτή που καθορίζει κατά πόσον θα εκφραστούν τα γονίδια του οπερονίου της λακτόζης. **Οπερόνιο** ονομάζεται ένα συσσωμάτωμα γονιδίων, τα οποία βρίσκονται υπό τον έλεγχο κοινού υποκινητή. Η πρόσδεση της RNA πολυμεράσης στον υποκινητή του οπερονίου παράγει ένα πολυκιστρονικό mRNA το οποίο αποτελεί μετάγραφο όλων των γονιδίων του οπερονίου. Ο έλεγχος της προσβασιμότητας του υποκινητή στην RNA πολυμεράση καθορίζεται από δύο ρυθμιστικά στοιχεία. Την αλληλουχία του χειριστή, η οποία εντοπίζεται εντός της αλληλουχίας του υποκινητή αλλά και μιας αλληλουχίας πάνω στην οποία προσδένεται η ενεργοποιητική πρωτεΐνη *Cap*. Συνεπώς, η ενεργότητα του υποκινητή του οπερονίου της

λακτόζης ελέγχεται από δύο διαφορετικά σήματα: από τον καταστολέα Lac ο οποίος προσδένεται πάνω στο χειριστή και εμποδίζει την πρόσδεση της RNA πολυμεράσης και της αλληλουχίας που προσδένει την ενεργοποιητική πρωτεΐνη Cap. Η Cap βοηθά την RNA πολυμεράση να προσδεθεί στον υποκινητή και να μεταγράψει το οπερόνιο.

Συνεπώς, το οπερόνιο της λακτόζης δεν μεταγράφεται όταν στο θρεπτικό υλικό δεν υπάρχει λακτόζη, καθώς ο καταστολέας Lac προσδένεται στο χειριστή του οπερονίου και καταστέλλει την έκφρασή του. Η προσθήκη λακτόζης αυξάνει την ενδοκυττάρια συγκέντρωση της συγγενούς ουσίας αλλολακτόζης η οποία προσδένεται στον καταστολέα Lac και προκαλεί τον αλλοστερισμό του. Τότε ο Lac δεν είναι πλέον συγγενικός με την αλληλουχία του χειριστή και αποσπάται. Όταν δεν υπάρχει γλυκόζη το κύτταρο παράγει cAMP και η πρωτεΐνη Cap προσδένεται πάνω στο DNA υποβοηθώντας την πρόσδεση της RNA πολυμεράσης και την μεταγραφή του οπερονίου. Έτσι, το οπερόνιο εκφράζεται μόνο όταν τηρούνται δύο προϋποθέσεις: παρουσία λακτόζης και απουσία γλυκόζης. Αυτό το γενετικό κύκλωμα συμπεριφέρεται ως διακόπτης και επιτελεί μία λογική σειρά πράξεων όπως ένας υπολογιστής.

Όταν στο θρεπτικό μέσο υπάρχει λακτόζη και απουσιάζει η γλυκόζη τότε το κύτταρο εκτελεί το κατάλληλο πρόγραμμα δηλαδή ενεργοποιεί τη μεταγραφή του οπερονίου που επιτρέπουν την πρόσληψη και την αξιοποίηση της λακτόζης.

Θέμα 4^ο: Σε ποιον κλώνο και γιατί δημιουργείται πρόβλημα στην ολοκλήρωση της αντιγραφής; Πώς αντιμετωπίζεται από τα κύτταρα;

Η DNA πολυμεράση το ένζυμο που αντιγράφει το DNA συνθέτει μόνο με κατεύθυνση 5'→3'. Επομένως ο καθυστερημένος κλώνος μιας διχάλας αντιγραφής συντίθεται ασυνεχώς με μικρά κλάσματα DNA (κλάσματα Okazaki) καθένα από τα οποία αποτελείται από έναν RNA εκκινητή (που συντίθεται από μία πριμάση) και από μικρά τμήματα DNA. Ωστόσο καθώς η διχάλα της αντιγραφής φτάνει στο τέλος του χρωμοσώματος προκύπτει ένα σοβαρό πρόβλημα. Παρόλο που ο προπορευόμενος κλώνος αντιγράφεται κατά μήκος ολόκληρου του χρωμοσώματος αυτό δεν συμβαίνει στον καθυστερημένο κλώνο. Όταν απομακρυνθεί ο τελικός RNA εκκινητής στον καθυστερημένο κλώνο αυτός δεν μπορεί να αντικατασταθεί και παραμένει ένα τμήμα του κλώνου εκμαγείου που δεν μπορεί να αντιγραφεί. Χωρίς μία στρατηγική για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος ο καθυστερημένος κλώνος θα γίνεται βραχύτερος μετά από κάθε κύκλο αντιγραφής του DNA και συνεπώς μετά από επαναλαμβανόμενες κυτταρικές διαιρέσεις τα χρωμοσώματα θα συρρικνωνόνταν και τελικά χάνονταν πολύτιμες πληροφορίες. Τα βακτήρια

έχουν επιλύσει αυτό το πρόβλημα της αντιγραφής με το να διαθέτουν κυκλικά μόρια DNA.

Οι ευκαρυώτες επιλύουν το πρόβλημα διαθέτοντας τα άκρα των χρωμοσωμάτων τους ειδικές αλληλουχίες τελομεριδίων που ενσωματώνονται σε δομές που καλούνται τελομερίδια. Αυτές οι αλληλουχίες προσελκύουν ένα ένζυμο γνωστό ως **τελομεράση** το οποίο χρησιμοποιώντας ένα εκμαγείο RNA που αποτελεί μέρος του ενζύμου επεκτείνει τα άκρα του καθυστερημένου κλώνου μέσω της προσθήκης πολλαπλών αντιγράφων της ίδιας βραχείας αλληλουχίας DNA. Στον καθυστερημένο κλώνο αυτή η εκτεταμένη επαναλαμβανόμενη αλληλουχία DNA λειτουργεί ως εκμαγείο που επιτρέπει την ολοκλήρωση της αντιγραφής του με την προσθήκη ενός τελευταίου τμήματος Okazaki. Το ένζυμο τελομεράση διαθέτει ενσωματωμένο ένα μικρό τμήμα RNA και οι αλληλουχίες που προσθέτει στον καθυστερημένο κλώνο του DNA είναι συμπληρωματικές ως προς αυτό το RNA. Μόλις ολοκληρωθεί η αντιγραφή του καθυστερημένου κλώνου παραμένει μία μικρή έκταση μονοκλώνου DNA στα άκρα του χρωμοσώματος.

Τα τελομερή σχηματίζουν δομές που σηματοδοτούν τα άκρα των χρωμοσωμάτων και έτσι το κύτταρο μπορεί να διακρίνει μεταξύ των φυσικών τελικών αγώνων των χρωμοσωμάτων και θραύσεων του διπλού κλώνου του DNA, που σε ορισμένες φορές απαντώνται περιστασιακά στα χρωμοσώματα. Αυτές οι θραύσεις είναι επικίνδυνες και πρέπει να επιδιορθωθούν άμεσα για να μην προκαλέσουν ασταθή καρυότυπο.

Η δράση της τελομεράσης με την πάροδο της ηλικίας μειώνεται και παραμένει ενεργή σε λίγους τύπους κυττάρων, όπως τα κύτταρα του μυελού των οστών και οι γαμέτες. Γι' αυτό το λόγο το μήκος των τελομερών σταδιακά βραχύνεται και όταν το μήκος φτάσει σε έναν κρίσιμο ουδό το κύτταρο παύει πλέον να μπαίνει σε μίτωση.

Σε περιπτώσεις εξαλλαγής του κυττάρου προς καρκινικό το γονίδιο της τελομεράσης είναι δυνατόν να επανενεργοποιηθεί (ογκογονίδιο) δίνοντας στο κύτταρο ένα ανεξάντλητο μιτωτικό δυναμικό.