

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ζούμε σε μια εποχή την οποία οι ιστορικοί στο μέλλον θα αναφέρουν ως τη «γενετική εποχή», μια εποχή που οι επιστήμονες σε όλο τον κόσμο δουλεύουν σε ένα από τα πιο φιλόδοξα έργα που έχει σκεφτεί ο άνθρωπος: «Το ανθρώπινο γονιδίωμα». Ο στόχος του είναι η ανάγνωση των 3 δισεκατομμυρίων βάσεων (τα A, G, C, T) που βρίσκονται στα 23 ζευγάρια χρωμοσωμάτων που αποτελούν το ανθρώπινο γονιδίωμα.

Η δημοσίευση των «πρόχειρων»(draft) αλληλουχιών το 2001 έμελε να δημιουργήσει μια επανάσταση στη μοριακή βιολογία, ελαχιστοποιώντας την ανάγκη της κλωνοποίησης και της αλληλούχισης γονιδίων, που σχετίζονται με την ανθρώπινη υγεία και τις ασθένειες. Οι βιολόγοι μπορούν να στραφούν στο διαδίκτυο για να βρουν αλληλουχίες στις βάσεις δεδομένων. Αλλά οι πρόχειρες αλληλουχίες περιείχαν εκατοντάδες χιλιάδες κενών και λανθασμένα συγκροτημένων περιοχών, όπου κομμάτια του γονιδιώματος ήταν ανεστραμμένα ή είχαν τοποθετηθεί λάθος.

Μετά την δημοσίευση των πρόχειρων αλληλουχιών, η δουλειά συνεχίστηκε για να γεμίσουν τα κενά: μέχρι τον Οκτώβριο του 2004 υπήρχαν ακόμα 341! Ποιο είναι το επόμενο βήμα; Μάλλον αυτό είναι το σημαντικότερο, να βρουν δηλαδή οι επιστήμονες τι πραγματικά κάνουν τα γονίδια και πώς δρουν συστηματικά για να φέρουν εις πέρας όλες τις διεργασίες που απαιτούνται για τη ζωή. Και ίσως, το πιο σημαντικό είναι πώς η έκφραση μερικών γονιδίων μπορεί να οδηγήσει σε κάποιες ασθένειες όπως ο καρκίνος, ώστε να σχεδιάσουν ειδικές ιατρικές θεραπείες που να ταιριάζουν στη γενετική υπόσταση του κάθε ανθρώπου.

Δεν είναι μόνο η αλληλούχιση του ανθρώπινου γονιδιώματος που παράγει μεγάλη ποσότητα δεδομένων. Χρησιμοποιώντας τεχνικές όπως η αλληλούχιση τυχαίας θέσης ολόκληρου του γονιδιώματος («whole genome shotgun»), στην οποία ολόκληρο το γονιδίωμα κομματιάζεται σε μικρά κομμάτια, αλληλουχίζεται και στη συνέχεια η αλληλουχία συγκροτείται από ειδικό λογισμικό σε ένα βήμα, οι βιολόγοι έχουν διαβάσει τα γονιδιώματα οργανισμών που χρησιμοποιούνται στη βιολογική έρευνα πολλά χρόνια. Γνωρίζοντας ποια γονίδια εμπλέκονται στην ζωική εκδοχή της ασθένειας μπορούν να βοηθήσουν για την επισήμανση της λειτουργίας του γονιδίου στον άνθρωπο. Επιπλέον, η σύγκριση ανθρώπινου και ζωικού DNA μπορεί να δώσει ιδέες για τη βασική βιολογία και την εξέλιξη. Έτσι, όσο η λίστα των εντελώς αλληλουχισμένων οργανισμών, που περιλαμβάνει μικροοργανισμούς, ασπώνδυλα, φυτά και μια συλλογή από ζώα – αρουραίος, ποντίκι, χιμπαντζής – μεγαλώνει, νέα εργαλεία αναπτύσσονται για να εξηγήσουν το πλήθος της πληροφορίας που προέρχεται από την γονιδιακή χαρτογράφηση για την κατανόηση της γονιδιακής έκφρασης.

Γονιδιακή έκφραση στο κύτταρο

Εκτός από λίγες εξαιρέσεις, κάθε κύτταρο στο σώμα περιέχει ένα ολόκληρο σετ από χρωμοσώματα και παρόμοια γονίδια. Όμως, μόνο ένα ποσοστό αυτών των γονιδίων ενεργοποιείται και αυτό το ποσοστό που «εκφράζεται» δίνει μοναδικές ιδιότητες σε κάθε κύτταρο. Η «γονιδιακή έκφραση» είναι ο

όρος που χρησιμοποιείται για να εκφράσει την μεταγραφή της πληροφορίας που περιέχεται στο DNA, την αποθήκη της γενετικής πληροφορίας, σε μόρια αγγελιοφόρου RNA (mRNA). Αυτά τα μόρια οποία μεταφράζονται σε πρωτεΐνες, οι οποίες φέρουν εις πέρας τις σημαντικές λειτουργίες του κυττάρου. Οι επιστήμονες μελετούν το είδος και την ποσότητα των mRNAs που παράγονται από ένα κύτταρο για να μάθουν ποια γονίδια εκφράζονται, γεγονός που δίνει πληροφορίες για το πώς το κύτταρο απαντά στις μεταβαλλόμενες ανάγκες του. Η γονιδιακή έκφραση είναι μια πολύ πολύπλοκη και αυστηρά ελεγχόμενη διεργασία που επιτρέπει σε ένα κύτταρο να απαντά δυναμικά στα περιβαλλοντικά ερεθίσματα και στις δικές του ανάγκες. Αυτός ο μηχανισμός δρα σαν ένα διακόπτης ανοικτού/κλειστού για να ελέγξει ποια γονίδια θα εκφραστούν στο κύτταρο, και ως ένας διακόπτης «ελέγχου ροής», που αυξάνει ή ελαττώνει το επίπεδο έκφρασης συγκεκριμένων γονιδίων, όταν αυτό κριθεί απαραίτητο.

Ανάλυση γονιδιακής έκφρασης

Η μελέτη της γονιδιακής έκφρασης ενέχει την παρατήρηση των ποσοτήτων mRNA ή πρωτεϊνών που παράγονται από ένα κύτταρο μια δεδομένη στιγμή. Μέχρι το 1990, οι επιστήμονες μπορούσαν να μελετήσουν λίγα μόνο γονίδια κάθε φορά. Τώρα έχουν αναπτύξει ένα νέο εργαλείο, που ονομάζεται μικροσυστοιχία DNA, η οποία είναι γνωστή ως DNA τσιπ και υπόσχεται να μεταφέρει την επιστήμη της κατανόησης γονιδίων σε νέο επίπεδο με την ταυτόχρονη ανάλυση της έκφρασης χιλιάδων γονιδίων γρήγορα και αποτελεσματικά.

Η αρχή πίσω από την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης βασίζεται στη σύγκριση δειγμάτων, για παράδειγμα ιστών – νέων και γερασμένων – για τη μελέτη της ανάπτυξης και της γήρανσης, απλών και πολύπλοκων οργανισμών για τη μελέτη της εξέλιξης και ασθενών και υγιών ιστούς για τη μελέτη συγκεκριμένων ασθενειών.

Μικροσυστοιχίες – Πώς δουλεύουν τα τσιπς

Η βασική αρχή των DNA τσιπς είναι ότι ένα μόριο mRNA θα προσκολληθεί ειδικά, μέσω δημιουργίας ζευγών βάσεων, με ένα μόριο DNA που έχει συμπληρωματική αλληλουχία. Και η ιδέα είναι να εκτυπώσει κανείς χιλιάδες (20000) κουκίδες μονόκλωνων αλληλουχιών DNA σε μια σειρά μόλις λίγων εκατοστών, η οποία δρα σαν μια μικρή συστοιχία κολλητικών επιφανειών που προσελκύουν συμπληρωματικά μόρια RNA που εφαρμόζονται σαν ένα υγρό. Οι μικροσυστοιχίες DNA είναι πολύ συμπαγείς και μπορούν να παραχθούν στο εργαστήριο με σχετικά μικρό κόστος χρησιμοποιώντας γυάλινες αντικειμενοφόρες πλάκες, σαν αυτές που χρησιμοποιούνται για τη μικροσκοπία. Όπως μπορείτε να φανταστείτε, η εκτύπωση 20000 μικροσκοπικών κουκίδων DNA (κάθε κουκίδα αντιστοιχεί σε ένα συγκεκριμένο γονίδιο) σε μια τόσο μικρή επιφάνεια δεν είναι εύκολη υπόθεση. Όχι μόνο οι κουκίδες πρέπει να έχουν το ίδιο σχήμα, αλλά πρέπει να ισαπέχουν μεταξύ τους. Αυτά τα προβλήματα έχουν επιλυθεί με τη ρομποτική

Τσιπς στο EMBL

Πολλές ερευνητικές ομάδες στο EMBL χρησιμοποιούν μικροσυστοιχίες. Η ομάδα του Wilhelm Ansorge έχει βρεθεί στο προσκήνιο της δημιουργίας και

ανάλυσης μικροσυστοιχιών, φτιάχνοντας μικροσυστοιχίες για ανθρώπινα γονίδια.

Το εργαστήριο του Matthias Hentze έχει χρησιμοποιήσει μικροσυστοιχίες για να μελετήσει μια ασθένεια που στον άνθρωπο αποκαλείται «αιμοχρωμάτωση», μια μεταβολική ασθένεια που προκαλεί αυξημένη απορρόφηση σιδήρου, το οποίο εναποτίθεται στους ιστούς και όργανα του σώματος. Ο σίδηρος συσσωρεύεται στο σώμα όπου μπορεί να γίνει τοξικός και να προκαλέσει ζημιά.

Στο πλαίσιο της αναπτυξιακής βιολογίας, η Eileen Furlong έχει χρησιμοποιήσει τις μικροσυστοιχίες για να βρει ποια γονίδια εκφράζονται ε διαφορετικά στάδια της ανάπτυξης της φρουτόμυγας (*Drosophila melanogaster*). Τέλος, το εργαστήριο του Φώτη Καφάτου χρησιμοποιεί τις μικροσυστοιχίες για να ταυτοποιήσει γονίδια του ανοσοποιητικού συστήματος του κουνουπιού (*Anopheles gambiae*), τα οποία ίσως βοηθήσουν να καταστραφεί το παράσιτο της ελονοσίας μέσα στο έντομο, πριν μολύνει τους ανθρώπους.