

ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΘΕΤΙΚΗΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ

ΘΕΜΑ Α

1. Από δυο γονείς που δεν πάσχουν από την ασθένεια αποκτήθηκε ένα παιδί που πάσχει. Ποια είναι η πιθανότερη εξήγηση αν η ασθένεια που μελετάται είναι α) η δρεπανοκυτταρική αναιμία β) η αιμορροφιλία γ) η αχονδροπλασία, που κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο;
2. Που δρουν φυσιολογικά α) οι DNA πολυμεράσες β) οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες γ) η αντίστροφη μεταγραφάση δ) η DNA δεσμάση; Να αναφέρετε ποιες είναι οι εφαρμογές τους στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA;

ΘΕΜΑ Β

1. Ποιες προϋποθέσεις θα πρέπει να πληρούνται για να εκφραστεί στο φαινότυπο ενός ατόμου μια γονιδιακή μετάλλαξη που συμβαίνει σε κάποιο σωματικό του κύτταρο;
2. Ποιες μεθόδους θεραπείας ασθενειών με τη χρήση των τεχνικών της Βιοτεχνολογίας γνωρίζετε;

ΘΕΜΑ Γ

1. Δεχόμαστε ότι ένας υποθετικός βακτηριοφάγος έχει RNA ως γενετικό υλικό και το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση. Η ακολουθία νουκλεοτιδίων σε ένα τμήμα του RNA του ιού είναι η παρακάτω :
5'...GCCGAAUUCAUUA...3'
Ο ιός μολύνει ένα βακτήριο E.coli. Ο ιός, με τη διαδικασία της αντίστροφης μεταγραφής, με καλούπι το RNA του συνθέτει μια συμπληρωματική αλυσίδα DNA. Στη συνέχεια, αφού απομακρυνθεί το RNA του ιού, η αλυσίδα του DNA αντιγράφεται και έτσι το DNA γίνεται δίκλωνο. Στη συνέχεια μπορεί να αρχίσει ο πολλαπλασιασμός του ιού. Να προτείνετε έναν πιθανό μηχανισμό με τον οποίο το βακτήριο θα μπορούσε να σταματήσει τον πολλαπλασιασμό του ιού, αφού αυτός σχηματίσει το DNA του. Να γράψετε την ακολουθία νουκλεοτιδίων στο δίκλωνο DNA του ιού.
2. α. Ποιες είναι οι εφαρμογές της αποδιάταξης; β. Ποιες εφαρμογές της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA στηρίζονται στη συμπληρωματικότητα των βάσεων; Σε ποια στάδια εφαρμόζεται η συμπληρωματικότητα;

ΘΕΜΑ Δ

1. Στο βακτήριο E.coli το φυσιολογικό K αλληλόμορφο (ρυθμιστικό γονίδιο) καθορίζει την πρωτεΐνη καταστολέα. Το μεταλλαγμένο κ αλληλόμορφο καθορίζει μια αλλαγμένη πρωτεΐνη καταστολέα που ενώ διατηρεί την ικανότητα της να συνδέεται στο χειριστή δε μπορεί να συνδεθεί με τη λακτόζη. Ποια είναι η γενετική σύσταση ενός βακτηρίου που παράγει τη μεταλλαγμένη πρωτεΐνη καταστολέα; Ποιες είναι οι συνέπειες της μετάλλαξης όταν το βακτήριο αναπτύσσεται σε θρεπτικό υλικό στο οποίο υπάρχει μόνο λακτόζη ως πηγή άνθρακα;
2. Ένα ινίδιο χρωματίνης του ανθρώπου στην αρχή της μεσόφασης, έχει $5 \cdot 10^4$ ζεύγη βάσεων. Σε αυτό υπάρχει το παρακάτω γονίδιο:
5'...TTAATGAATTCCCGACATAACCC...3'
3'...AATTACTTAAGGGCTGTATTGGG...5'
α. Πόσοι Φ.Δ. θα υπάρχουν στο χρωμόσωμα στο στάδιο της μετάφασης;

- β. Αν η EcoRI κόβει το ινίδιο χρωματίνης μόνο στη θέση που φαίνεται στο παραπάνω γονίδιο πόσοι Φ.Δ. θα υπάρχουν συνολικά στα τμήματα που θα προκύψουν αν κόψουμε με την EcoRI;
- γ. Πόσοι πεπτιδικοί δεσμοί θα υπάρχουν στο ολιγοπεπτίδιο που κωδικοποιείται;
- δ. Θα χρησιμοποιούσατε την EcoRI για να απομονώσετε και να κλωνοποιήσετε το γονίδιο;

ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ

ΘΕΜΑ Α

- 1.α) Η δρεπανοκυτταρική αναιμία κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Σε μια τέτοια ασθένεια είναι δυνατόν από δυο γονείς φορείς, που δεν πάσχουν την ασθένεια να αποκτηθεί ένας απόγονος που πάσχει. β) Η αιμορροφιλία κληρονομείται με φυλοσύνδετο υπολειπόμενο τρόπο. Ο πατέρας αφού δεν πάσχει έχει γενότυπο X^AY . Αν η μητέρα είναι φορέας (X^AX^a) μπορεί να αποκτηθεί ένα αγόρι που πάσχει με γενότυπο X^aY . γ) Η αχονδροπλασία οφείλεται σε ένα αυτοσωμικό επικρατές αλληλόμορφο A. Οι γονείς, αφού δεν πάσχουν, έχουν γενότυπο αα. Στην περίπτωση αυτή όλοι οι απόγονοι θα έχουν γενότυπο αα. Ένα παιδί που πάσχει από την ασθένεια (A_) μπορεί να γεννηθεί μόνο αν συνέβη κάποια μετάλλαξη και το φυσιολογικό α μετατράπηκε στο A. Η μετάλλαξη μπορεί να συνέβη σε κάποιον από τους γαμέτες ενός από τους δυο γονείς ή στο ζυγωτό.
- 2.α) Οι DNA πολυμεράσες συμμετέχουν στην αντιγραφή του DNA και δρουν φυσιολογικά όπου γίνεται αντιγραφή, δηλαδή στα προκαρυωτικά κύτταρα καθώς και στον πυρήνα, τα μιτοχόνδρια και τους χλωροπλάστες των ευκαρυωτικών κύτταρων. Οι DNA πολυμεράσες χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία δίκλωνου DNA από το cDNA κατά την κατασκευή της cDNA βιβλιοθήκης καθώς και στη μέθοδο PCR για την αντιγραφή του DNA.
- β) Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες συναντώνται φυσιολογικά στα βακτήρια και σήμερα χρησιμοποιούνται στην κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης και γονιδιωματικής βιβλιοθήκης. Επίσης χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία του ανασυνδυασμένου πλασμιδίου T_i κατά τη διαδικασία δημιουργίας διαγονιδιακών φυτών.
- γ) Η αντίστροφη μεταγραφάση είναι ένα ένζυμο που συναντάται φυσιολογικά μόνο σε κάποιους ιούς που έχουν RNA ως γενετικό υλικό. Στη Βιοτεχνολογία χρησιμοποιείται για την παραγωγή DNA με καλούπι το mRNA κατά τη διαδικασία κατασκευής cDNA βιβλιοθήκης.
- δ) Η DNA δεσμάση συμμετέχει στην αντιγραφή του DNA και άρα συναντάται στα προκαρυωτικά κύτταρα καθώς και στον πυρήνα, τα μιτοχόνδρια και τους χλωροπλάστες των ευκαρυωτικών κύτταρων. Χρησιμοποιείται για τη δημιουργία του ανασυνδυασμένου DNA κατά τις διαδικασίες κατασκευής γονιδιωματικής, cDNA βιβλιοθήκης και κατά τη δημιουργία διαγονιδιακών φυτών.

ΘΕΜΑ Β

1. • Θα πρέπει η μετάλλαξη να συμβεί σε κάποιο κύτταρο στο οποίο εκφράζεται το γονίδιο που μεταλλάχθηκε.
• Θα πρέπει η μετάλλαξη να συμβεί σε κάποιο πρώιμο στάδιο της εμβρυϊκής ανάπτυξης ώστε να υπάρχουν αρκετά κύτταρα που θα έχουν τη μετάλλαξη.

- Θα πρέπει η μετάλλαξη να συμβεί σε περιοχή του γονιδίου που μεταφράζεται (εξώνια),να επηρεάζει αμινοξέα σημαντικά για τη λειτουργία της πρωτεΐνης και να μην οδηγεί στη δημιουργία συνώνυμου κωδικονίου.
- Το μη μεταλλαγμένο αλληλόμορφο να μην επικρατεί στην έκφραση του αλληλομόρφου που δημιουργήθηκε με μετάλλαξη.

2.Τα μονοκλωνικά αντισώματα που παράγονται με μεθόδους της Βιοτεχνολογίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία ασθενειών που προκαλούνται από παθογόνους μικροοργανισμούς αλλά και για τη θεραπεία του καρκίνου. Μια άλλη πολύ σημαντική εφαρμογή της Βιοτεχνολογίας στη θεραπεία διαφόρων ασθενειών είναι η παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών σε γενετικά τροποποιημένα βακτήρια και στο γάλα διαγονιδιακών ζώων. Αυτές οι πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία ασθενειών που συνήθως οφείλονται στη μετάλλαξη κάποιου γονιδίου που έχει ως αποτέλεσμα την έλλειψη της αντίστοιχης πρωτεΐνης. Η μέθοδος της γονιδιακής θεραπείας είναι μια μέθοδος θεραπείας γενετικών ασθενειών που στηρίζεται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA.

ΘΕΜΑ Γ

1.Το μονόκλωνο DNA που θα παραχθεί με καλούπι το RNA του ιού θα έχει την παρακάτω ακολουθία νουκλεοτιδίων 3'...CGGCTTAAGTAAT...5' Όταν θα αντιγραφεί αυτή η αλυσίδα θα προκύψει ένα δίκλωνο μόριο με την παρακάτω ακολουθία νουκλεοτιδίωνGCCGAATTCATTA...
....CGGCTTAAGTAAT...

Όπως παρατηρείται στο παραπάνω DNA υπάρχει η ακολουθία νουκλεοτιδίων που αναγνωρίζεται από την EcoRI που φυσιολογικά υπάρχει στο βακτήριο. Έτσι η περιοριστική ενδονουκλεάση θα μπορούσε να κόψει το DNA του ιού στη θέση αυτή και να σταματήσει με αυτόν τον τρόπο τον πολλαπλασιασμό του ιού.

2.α.Για την επιλογή ενός βακτηριακού κλώνου από μια γονιδιωματική ή cDNA βιβλιοθήκη αποδιατάσσεται το DNA της βιβλιοθήκης και ακολουθεί υβριδοποίηση με κατάλληλο ανιχνευτή. Επίσης κατά την κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης γίνεται αποδιάταξη για την απομάκρυνση του mRNA. Τέλος χρησιμοποιείται και στην PCR. β. Κατά την κατασκευή του ανασυνδυασμένου DNA, χάρη στη συμπληρωματικότητα των μονόκλωνων άκρων, το DNA του δότη ενσωματώνεται στους φορείς κλωνοποίησης. Στη cDNA βιβλιοθήκη με καλούπι το mRNA παράγεται μία συμπληρωματική αλυσίδα cDNA. Κατά την επιλογή ενός βακτηριακού κλώνου από μια βιβλιοθήκη με υβριδοποίηση και τέλος στην PCR.

ΘΕΜΑ Δ

1.Τα βακτήρια είναι προκαρυωτικοί οργανισμοί και άρα απλοειδείς. Αυτό σημαίνει ότι σε κάθε βακτήριο για κάθε γενετική θέση υπάρχει ένα μόνο αλληλόμορφο. Ένα βακτήριο που συνθέτει τη μεταλλαγμένη πρωτεΐνη καταστολέα έχει μόνο το κ αλληλόμορφο. Σε ένα τέτοιο βακτήριο η λακτόζη δε μπορεί να προσδεθεί στην πρωτεΐνη καταστολέα. Έτσι η πρωτεΐνη καταστολέας παραμένει συνεχώς προσδεμένη στο χειριστή, οπότε δε γίνεται η μεταγραφή των δομικών γονιδίων. Όταν λοιπόν στο περιβάλλον υπάρχει μόνο λακτόζη, επειδή δεν παράγονται τα ένζυμα για τη διάσπαση της το βακτήριο δε θα μπορέσει να τη χρησιμοποιήσει και θα πεθάνει.

2.α.Το ινίδιο χρωματίνης αποτελείται από ένα δίκλωνο γραμμικό μόριο DNA. Στη μετάφραση το χρωμόσωμα αποτελείται από δύο αδελφές χρωματίδες

που είναι τα δύο δίκλινα γραμμικά μόρια που προέκυψαν από την αντιγραφή του DNA και το καθένα έχει $5 \cdot 10^4$ ζεύγη βάσεων, δηλ. $10 \cdot 10^4$ νουκλεοτίδια. Στο κάθε δίκλινο γραμμικό μόριο DNA θα υπάρχουν: $\Phi.Δ. = \text{νουκλεοτίδια} - 2$. Άρα συνολικά στο χρωμόσωμα θα υπάρχουν: $\Phi.Δ.ολ. = (10 \cdot 10^4 - 2) + (10 \cdot 10^4 - 2) = 2(10 \cdot 10^4 - 2) = 20 \cdot 10^4 - 4$

β. Η EcoRI θα αναγνωρίσει την παρακάτω ακολουθία στο δίκλινο DNA:

5'...ΤΤΑΑΤ**GAATTC**CCGACATAACCC...3'

3'...ΑΑΤΤΑ**CTTAAG**GGCTGTATTGGG...5' και θα κόψει δημιουργώντας

τα παρακάτω κομμάτια:



Το α κομμάτι αποτελείται από δύο αλυσίδες που η πρώτη έχει ν_1 νουκλεοτίδια και η δεύτερη ν_2 νουκλεοτίδια. Το β κομμάτι αποτελείται από δύο αλυσίδες που η πρώτη έχει ν_3 και η δεύτερη ν_4 νουκλεοτίδια. Οι $\Phi.Δ.$ σε μια αλυσίδα νουκλεοτιδίων είναι όσα και τα νουκλεοτίδια της αλυσίδας -1 . Άρα οι συνολικοί $\Phi.Δ.$ και στα δύο κομμάτια θα είναι: $\Phi.Δ.ολ. = \nu_1 - 1 - \nu_2 - 1 + \nu_3 - 1 + \nu_4 - 1 = \nu_1 + \nu_2 + \nu_3 + \nu_4 - 4 = 10 \cdot 10^4 - 4$

Ισχύει: $\nu_1 + \nu_2 + \nu_3 + \nu_4 = 10 \cdot 10^4$ δηλ. όσα και τα νουκλεοτίδια του αρχικού μορίου.

γ. Για να βρούμε τα αμινοξέα και τους πεπτιδικούς δεσμούς θα πρέπει να βρούμε ποιο είναι το mRNA που μεταγράφεται. i) Αν είναι η κάτω η μεταγραφόμενη αλυσίδα τότε το mRNA που θα προέκυπτε θα ήταν συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο:

5'ΥΥΑ**AUG**AAUUC**CCG**ACAUAACCC3'

Ψάχνοντας το mRNA από το 5' προς το 3' άκρο βρίσκουμε κωδικόνιο έναρξης αλλά όχι κωδικόνιο λήξης. Άρα δε θα μπορούσε να είναι η κάτω η μεταγραφόμενη αλυσίδα.

ii) Αν είναι η επάνω η μεταγραφόμενη αλυσίδα τότε το mRNA που προκύπτει θα είναι: 3'**AAU**UACUUAAGGG**CU**GU**AU**U**GGG**5'

Ψάχνοντας το mRNA από το 5' προς το 3' άκρο βρίσκουμε και κωδικόνιο έναρξης και κωδικόνιο λήξης. Άρα μπορεί να κωδικοποιεί ένα πενταπεπτίδιο. Οι πεπτιδικοί δεσμοί σε αυτό θα είναι 4.

δ. Εφόσον η EcoRI κόβει στο εσωτερικό του παραπάνω γονιδίου δε θα μπορούσαμε να τη χρησιμοποιήσουμε για να απομονώσουμε ολόκληρο το γονίδιο. Θα πρέπει να χρησιμοποιήσουμε ένα ένζυμο που να κόβει στα άκρα του αλλά όχι στο εσωτερικό του.

ΕΠΙΜΕΛΕΙΑ
ΚΑΡΑΦΟΛΑ ΣΟΦΙΑ