

ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ ΣΤΟ 6^ο ΚΡΙΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΥ Γ ΛΥΚΕΙΟΥ

ΘΕΜΑ Α

A1. β. A2. β. A3. α. A4. α. A5. α.

ΘΕΜΑ Β

B1. 8: πρόφαση I, 3: Μετάφαση I, 1: Ανάφαση I, 7: Τελόφαση I, 4: Πρόφαση II, 5: Μετάφαση II, 2: Ανάφαση II, 6: Τελόφαση II

B2. Οι ιοί στην βιοτεχνολογία χρησιμοποιούνται με τους εξής τρόπους:

1. Απομόνωση από ρετροϊούς της αντίστροφης μεταγραφάσης, 2. Δημιουργία εμβολίων, 3. Πρόκληση παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων, 4. Ως φορείς του φυσιολογικού αλληλομόρφου στη γονιδιακή θεραπεία (in vivo και ex vivo), 5. Ως φορείς κλωνοποίησης (βακτηριοφάγοι), 6. Ως αντιγονικός παράγοντας για την παραγωγή και απομόνωση ώριμου mRNA για την βιοτεχνολογική παραγωγή ιντερφερονών.

B3.

Ασθένεια	Μέθοδος διάγνωσης
PKU	Μοριακή και βιοχημική, υπολογισμός της συγκέντρωσης φαινυλαλανίνης στο αίμα.
B-θαλασσαιμία	Μοριακή διάγνωση δηλαδή ανάλυση της αλληλουχίας των βάσεων του DNA και βιοχημική, προσδιορισμός αιμοσφαιρινών.
Κυστική ίνωση (σε έμβρυο)	Μοριακή διάγνωση δηλαδή ανάλυση της αλληλουχίας των βάσεων του DNA
Σύνδρομο Down	Καρυότυπος.
Δρεπανοκυτταρική αναιμία	Δοκιμασία δρεπάνωσης, προσδιορισμός της αιμοσφαιρίνης HbS στα ερυθροκύτταρα, εντοπισμός του μεταλλαγμένου αλληλομόρφου β ^s .
Σύνδρομο cri du chat	Καρυότυπος και ζώνες Giemsa

B4.

α) Στην αντίδραση χωρίς την παρουσία ενζυμικού καταλύτη, η ένδειξη που παριστάνει την ελάχιστη ενέργεια που πρέπει να προσφερθεί στα αντιδρώντα είναι η ένδειξη γ, ενώ η ένδειξη που παριστάνει την ελάχιστη ενέργεια που πρέπει να προσφερθεί στα

αντιδρώντα της αντίδρασης που καταλύεται από ένζυμο είναι η ένδειξη β. Η διαφορά στα δύο ποσά ενέργειας (β και γ) δικαιολογείται καθώς στις καταλυόμενες αντιδράσεις, τα ένζυμα με την παρουσία τους αυξάνουν την ταχύτητα των αντιδράσεων ακόμη και μέχρι 100 εκατομμύρια φορές, ελαττώνοντας την ενέργεια ενεργοποίησης. [Αυτό επιτυγχάνεται με τον κατάλληλο προσανατολισμό των μορίων - υποστρωμάτων (αντιδρώντων μορίων) στο ενεργό κέντρο του ενζύμου].

β) Αν η αντίδραση γινόταν χωρίς την παρουσία ενζυμικού καταλύτη, ο χρόνος που θα απαιτούνταν για την ολοκλήρωσή της θα ήταν πολύ μεγάλος ή δεν θα πραγματοποιούνταν καθόλου.

γ) Τα ένζυμα δεν συμμετέχουν στην αντίδραση που καταλύουν, με την έννοια ότι παραμένουν αναλλοίωτα μετά το τέλος της αντίδρασης και έτσι μπορούν να ξαναχρησιμοποιηθούν πολλές φορές, ώσπου να καταστραφούν. Για το λόγο αυτό απαιτείται μικρή ποσότητα ενζύμου για τη διεξαγωγή μιας αντίδρασης.

ΘΕΜΑ Γ

Γ1. Παρατηρούμε ότι η διαφορά ανάμεσα στη φυσιολογική πρωτεΐνη και στη μεταλλαγμένη είναι πέντε αμινοξέα ανάμεσα στη λυσίνη και γλυκίνη.

Γράφουμε το τμήμα του mRNA και του γονιδίου που κωδικοποιεί τα πέντε αμινοξέα, τόσο στη φυσιολογική όσο και στη μεταλλαγμένη παραλλαγή του γονιδίου.

Φυσιολογική αλληλουχία:

mRNA: 5' AAG AUA AUA AUA AUA AUA GGC 3'

Κωδική αλυσίδα DNA: 5' AAG ATA ATA ATA ATA ATA GGC 3'

Μη κωδική αλυσίδα DNA: 3' TTC TAT TAT TAT TAT TAT CCG 5'

Μεταλλαγμένη αλληλουχία:

mRNA: 5' AAG UAU UAU UAU UAU UAU GGC 3'

Κωδική αλυσίδα DNA: 5' AAG TAT TAT TAT TAT TAT GGC 3'

Μη κωδική αλυσίδα DNA: 3' TTC ATA ATA ATA ATA ATA CCG 5'

Παρατηρώντας τις αλληλουχίες του φυσιολογικού γονιδίου και του μεταλλαγμένου, διαπιστώνουμε ότι η μεταλλαγμένη αλληλουχία είναι αποτέλεσμα αναστροφής της αλληλουχίας του φυσιολογικού τμήματος.

Αναστροφή συμβαίνει όταν μια περιοχή ενός τμήματος DNA κοπεί, περιστραφεί κατά 180° και στη συνέχεια επανενωθεί με την υπόλοιπη αλληλουχία. Για να επανενωθεί το τμήμα που αναστρέφεται, πρέπει να σχηματιστούν 3'-5' φωσφοδιεστερικοί δεσμοί μεταξύ των νουκλεοτιδίων των άκρων.

Γ2. Έστω X^A το επικρατές αλληλόμορφο που είναι υπεύθυνο για την σύνθεση του ενζύμου E1 και X^a το υπολειπόμενο που κωδικοποιεί το μη λειτουργικό ένζυμο. Επίσης έστω X^B το επικρατές αλληλόμορφο που είναι υπεύθυνο για την σύνθεση του ενζύμου E2 και X^b το υπολειπόμενο που κωδικοποιεί το μη λειτουργικό ένζυμο.

Ένας ποντικός ♀ ή ♂ με άσπρο χρώμα συνθέτει είτε μη λειτουργικά ένζυμα E1 και E2 και για αυτό είναι ομόζυγος στα υπολειπόμενα αλληλόμορφα με γονότυπο $X^{ab}X^{ab}$ ή $X^{ab}Y$ αντίστοιχα είτε συνθέτει το λειτουργικό E2 και μη λειτουργικό E1 οπότε θα έχει γονότυπο: $X^{aB}X^{aB}$ ή $X^{aB}X^{ab}$ ή $X^{aB}Y$.

Ένας ποντικός με γκρι χρώμα συνθέτει μόνο το E1 και έχει γονότυπο: $X^{AB}X^{AB}$ ή $X^{AB}X^{ab}$ ή $X^{AB}Y$.

Ένας ποντικός με μαύρο χρώμα συνθέτει και τα 2 ένζυμα και έχει γονότυπο: $X^{AB}X^{AB}$ ή $X^{AB}X^{aB}$ ή $X^{AB}X^{Ab}$ ή $X^{AB}X^{ab}$ ή $X^{AB}Y$.

	♀	♂
Άσπρο	$X^{ab}X^{ab}$ ή $X^{aB}X^{aB}$ ή $X^{aB}X^{ab}$	$X^{ab}Y$ ή $X^{aB}Y$
Γκρι	$X^{AB}X^{AB}$ ή $X^{AB}X^{ab}$	$X^{AB}Y$
Μαύρο	$X^{AB}X^{AB}$ ή $X^{AB}X^{aB}$ ή $X^{AB}X^{Ab}$ ή $X^{AB}X^{ab}$ ή $X^{AB}Y$	$X^{AB}Y$

- i. Διασταύρωση άσπρου αρσενικού ποντικού που παράγει το ένζυμο E2 και έχει γονότυπο $X^{aB}Y$ με ένα γκρι ετερόζυγο θηλυκό $X^{AB}X^{ab}$.

P: $X^{aB}Y \times X^{AB}X^{ab}$

Γαμέτες: X^{aB} , $Y \times X^{AB}$, X^{ab}

Απόγονοι: $X^{AB}X^{aB}$, $X^{aB}X^{ab}$, $X^{AB}Y$, $X^{ab}Y$

Φαινότυποι: 1 ♀ μαύρο: 1 ♀ άσπρο: 1 ♂ γκρι: 1 ♂ άσπρο.

- ii. P: $X^{aB}X^{ab} \times X^{AB}Y$

Γαμέτες: X^{aB} , $X^{ab} \times X^{AB}$, Y

Απόγονοι: $X^{AB}X^{aB}$, $X^{AB}X^{ab}$, $X^{aB}Y$, $X^{ab}Y$

Φαινότυποι: 1 ♀ μαύρο: 1 ♀ γκρι: 2 ♂ άσπρα

Γ3. α. Τα βήματα που απαιτούνται για τη παραγωγή της ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης από ένα διαγονιδιακό ζώο είναι:

- Απομόνωση του ανθρώπινου γονιδίου που κωδικοποιεί την αυξητική ορμόνη.
- Μικροέγχυση του γονιδίου στο πυρήνα ενός γονιμοποιημένου ωαρίου ζώου.

- Τοποθέτηση του γενετικά τροποποιημένου ζυγωτού στη μήτρα ενήλικου ζώου κατάλληλα προετοιμασμένου για κυοφορία.
- Γέννηση του διαγονιδιακού ζώου.
- Διασταυρώσεις με σκοπό να περάσει η τροποποιημένη γενετική πληροφορία στους απογόνους.
- Παραγωγή, απομόνωση και καθαρισμός της αυξητικής ορμόνης.

β. Η διαδικασία παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι της αυξητικής ορμόνης έχει ως εξής: η ανθρώπινη αυξητική ορμόνη χορηγείται με ένεση σε ποντίκι και προκαλεί ανοσολογική αντίδραση, με αποτέλεσμα να αρχίσει η παραγωγή αντισωμάτων από εξειδικευμένα Β-λεμφοκύτταρα. Ύστερα από 2 εβδομάδες αφαιρείται ο σπλήνας από το ζώο αυτό και απομονώνονται τα Β-λεμφοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά συντήκονται με καρκινικά κύτταρα και παράγονται υβριδώματα που παράγουν μονοκλωνικά αντισώματα. Τα υβριδώματα μπορούν να φυλάσσονται για μεγάλα χρονικά διαστήματα στην κατάψυξη (-80°C) και να παράγουν οποιαδήποτε στιγμή το συγκεκριμένο αντίσωμα σε μεγάλες ποσότητες.

Θέμα Δ

Δ1. Για να κατασκευαστεί μια cDNA βιβλιοθήκη από υβριδώματα Β λεμφοκυττάρων, αρχικά απομονώνονται όλα τα ώριμα μόρια mRNA. Κατόπιν με τη βοήθεια του ενζύμου αντίστροφη μεταγραφάση το καθένα από αυτά τα μόρια mRNA χρησιμοποιείται ως καλούπι για τη σύνθεση της συμπληρωματικής αλυσίδας DNA (cDNA). Δημιουργούνται έτσι υβριδικά μόρια cDNA – mRNA. Εν συνεχεία το mRNA διασπάται με κατάλληλες χημικές ουσίες ή αποδιατάσσεται με θέρμανση και τα μόρια cDNA χρησιμεύουν ως καλούπι για τη σύνθεση μια συμπληρωματικής αλυσίδας DNA. Τελικά δημιουργούνται δίκλινα μόρια DNA.

Συνεπώς ένα μόριο cDNA είναι συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο με το μόριο του ώριμου mRNA από την αντίστροφη μεταγραφή του οποίου προέκυψε. Το ώριμο mRNA που χρησιμοποιείται για την κατασκευή μιας cDNA βιβλιοθήκης, δεν περιέχει εσώνια αλλά μόνο εξώνια. Κάθε μόριο mRNA περιέχει ένα κωδικόνιο έναρξης 5'-AUG-3' και ένα από το κωδικόνιο λήξης 5'-UGA-3', 5'-UAA-3' και 5'-UAG-3'. Άρα και στο cDNA θα υπάρχει τριάδα 3'-ACT-5', 3'-ATT-5' και 3'-ATC-5'.

Στο μόριο DNA του σχήματος, η αλυσίδα 2 είναι το cDNA και με την αλυσίδα αυτή υβριδοποιείται ο ανιχνευτής 1:

3'-TAACTACTCCTT**AGGTGAT**TACACTGATT-5' αλυσίδα 2

5'-**TCCACTA**-3' ανιχνευτής 1

Με τη αλυσίδα 1 του μορίου υβριδοποιείται ο ανιχνευτής 3

5'-ATTG**ATGAGG**AATCCACTAATGTGACTAA-3' αλυσίδα 1

3'-**TACTCC**-5' ανιχνευτής 3

Ο ανιχνευτής 2 δεν είναι συμπληρωματικός και αντιπαράλληλος ούτε με αλληλουχία στην αλυσίδα 1 ούτε με αλληλουχία στην αλυσίδα 2.

Δ2. Με τη μη κωδική αλυσίδα (αλυσίδα 2) υβριδοποιούνται τα 5 από τα 12 νουκλεοτίδια του ανιχνευτή ως εξής:

3'-TAACTACTCCTTAGGTGATT**CACTG**ATT-5'

5'-**GUGAC**-3'

Τα υπόλοιπα 6 νουκλεοτίδια του ανιχνευτή υβριδοποιούνται με το εσώνιο. Συνεπώς η αλληλουχία του εσωνίου στη μη κωδική του γονιδίου είναι η ακόλουθη:

3'-CTAATG-5' και σε ολόκληρο το γονίδιο:

5'-GATTAC-3'

3'-CTAATG-5'

Επομένως η αλληλουχία του γονιδίου (με έντονα γράμματα είναι το εσώνιο) είναι:

5'-ATTGATGAGGAATCCACTAAT**GATTAC**GTGACTAA-3' αλυσίδα 1

3'-TAACTACTCCTTAGGTGATT**CTAATG**CACTGATT-5' αλυσίδα 2

5'-**GAUUAC**GUGAC-3' ανιχνευτής

Δ3. Το γεγονός ότι εντοπίζεται κλώνος με το DNA του σχήματος σε περισσότερες από μια βιβλιοθήκες δηλώνει ότι το γονίδιο που περιέχεται στο DNA του γονιδίου εκφράζεται και στις δύο κατηγορίες κύτταρων. Συνεπώς το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί πρωτεΐνη που δεν παράγεται εξειδικευμένα σε έναν κυτταρικό τύπο, αλλά σε περισσότερες κατηγορίες κυττάρων και πιθανά να σχετίζεται με βασικές λειτουργίες τους. Άρα το γονίδιο μπορεί κωδικοποιεί τη σύνθεση ιστονών, πρωτεϊνών απαραίτητων στη μετάφραση, RNA πολυμεράσης, πρωτεϊνών της μικρής ή της μεγάλης ριβοσωμικής υπομονάδας, πρωτεϊνών του μικρού ριβονουκλεοπρωτεϊνικού σωματιδίου κ.α.

Δ4. α. Το mRNA κωδικοποιεί πεπτίδιο. Επομένως στην αλληλουχία του προσδιορίζεται το κωδικόνιο έναρξης 5' AUG 3' και με βήμα τριπλέτας, με συνεχή και μη επικαλυπτόμενο τρόπο, το κωδικόνιο λήξης που βρίσκεται στο μόριο II και είναι το 5' UAA 3'. Συνεπώς το rRNA είναι το μόριο I.

Μόριο II: 5' UAGGCAG**AUG**AAACCCUAAGC**UAA**AGCA 3'

β. Ναι, εφόσον το rRNA αυτό αποτελεί δομικό συστατικό της μικρής ριβοσωμικής υπομονάδας. Το mRNA μέσω ενός τμήματος που βρίσκεται στην 5' αμετάφραστη περιοχή του θα ενωθεί μ' αυτό το rRNA κατά τον σχηματισμό του συμπλόκου έναρξης της μετάφρασης:

Μόριο I rRNA: 5' AUCGC **CUGCCU** CGAAUCGCGACUAUAGC 3'

Μόριο II mRNA: 5' U **AGGCAG** AUG AAACCCCUAAGC UAA AGCA 3'

Η περιοχή 3' **UCCGUC** 5' του rRNA είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη με την περιοχή: 5' **AGGCAG** 3' του mRNA

Δ5. Το cDNA είναι συμπληρωματικό και αντιπαράλληλό με το αντίστοιχο ώριμο mRNA του οποίου η αλληλουχία θα είναι: GCGUUAUGGGAAAACAACAG. Σε κάθε πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα, ανεξάρτητα από τον αριθμό των νουκλεοτιδίων της, το πρώτο νουκλεοτίδιο έχει ελεύθερη φωσφορική ομάδα συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόζης του, ενώ το τελευταίο νουκλεοτίδιο έχει ελεύθερη υδροξυλομάδα συνδεδεμένη με τον 3' άνθρακα της πεντόζης του. Επομένως, απέναντι από το 5' άκρο του mRNA που σηματοδοτεί το πρώτο νουκλεοτίδιο βρίσκεται το 3' άκρο του cDNA που αντιστοιχεί με το τελευταίο νουκλεοτίδιο. Συνεπώς, τα τελευταία 20 νουκλεοτίδια του cDNA αντιστοιχούν στα 20 πρώτα νουκλεοτίδια του ώριμου mRNA και άρα ελέγχουμε για την ύπαρξη κωδικονίου έναρξης 5'AUG 3' σ' αυτό, το οποίο εντοπίζεται όπως φαίνεται στην αλληλουχία του mRNA: 5' GCGUA **AUG** GGA AAA CAA CAG 3' ξεκινώντας από το κωδικών έναρξης, με βήμα τριπλέτας, με συνεχή και μη επικαλυπτόμενο τρόπο εντοπίζονται συνολικά πέντε κωδικόνια που αντιστοιχούν σε πέντε αμινοξέα.