

ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ ΘΕΜΑΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ 2017

ΘΕΜΑ Α

A1. δ A2. δ A3. β A4. γ A5. α

ΘΕΜΑ Β

B1. I. Φωσφορική ομάδα

II. Υδροξύλιο

III. Αμινομάδα

IV. mRNA

V. RNA πολυμεράση

VI. μεταγραφόμενη αλυσίδα

VII. Κωδική αλυσίδα

B2. Η εικόνα 1 αντιστοιχεί σε προκαρυωτικό κύτταρο. Όπως φαίνεται στο σχήμα της εικόνας 1, η μεταγραφή και η μετάφραση γίνονται ταυτόχρονα, κάτι που μπορεί να συμβεί μόνο σε προκαρυωτικούς οργανισμούς, αφού δεν υπάρχει κυτταρική μεμβράνη σε αυτούς.

B3. Κάθε είδος αντισώματος που αναγνωρίζει έναν αντιγονικό καθοριστή παράγεται από μια ομάδα όμοιων Β-λεμφοκυττάρων, που αποτελούν έναν κλώνο. Τα αντισώματα που παράγονται από έναν κλώνο Β-λεμφοκυττάρων ονομάζονται μονοκλωνικά.

Για την κατασκευή μονοκλωνικών αντισωμάτων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε τεστ για την ανίχνευση της κήσης, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε ως αντιγόνο την ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη, μια ορμόνη που υπάρχει φυσιολογικά μόνο σε μια έγκυο γυναίκα.

Η διαδικασία που θα ακολουθήσουμε είναι η εξής:

Απομονώνουμε σε καθαρή μορφή την χοριακή γοναδοτροπίνη από έγκυο γυναίκα. Στη συνέχεια αυτή χορηγείται με ένεση σε ποντίκι και προκαλεί ανοσολογική αντίδραση με αποτέλεσμα να αρχίσει η παραγωγή αντισωμάτων από εξειδικευμένα Β-λεμφοκύτταρα. Ύστερα από δύο εβδομάδες αφαιρείται ο σπλήνας και απομονώνονται τα Β-λεμφοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά συντήνονται με καρκινικά κύτταρα και παράγονται τα 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 μονοκλωνικό αντίσωμα σε μεγάλες ποσότητες.

Τα υβριδώματα που παράγουν μονοκλωνικά αντισώματα για τη χοριακή γοναδοτροπίνη επιλέγονται και καλλιεργούνται ώστε να παραχθούν τα κατάλληλα μονοκλωνικά αντισώματα σε μεγάλες ποσότητες. Στη συνέχεια τα αντισώματα αυτά χρησιμοποιούνται ως ανοσοδιαγνωστικά για την κατασκευή τεστ εγκυμοσύνης.

B4. Μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη περιέχει όλο το γονιδίωμα ενός κυττάρου. Αφού όλα τα κύτταρα ενός πολυκύτταρου οργανισμού προέρχονται από μιτωτικές διαιρέσεις του ίδιου αρχικού κυττάρου (ζυγωτό), θα περιέχουν όλα το ίδιο γονιδίωμα. Άρα η γονιδιωματική βιβλιοθήκη από το μυϊκό και το ηπατικό κύτταρο θα είναι ίδιες, δεδομένου ότι ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία για την κατασκευή τους.

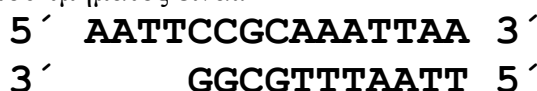
Μια cDNA βιβλιοθήκη περιέχει μόνο τα γονίδια που εκφράζονται σε έναν συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο. Το μυϊκό και το ηπατικό κύτταρο είναι διαφοροποιημένα κύτταρα με διαφορετικές λειτουργίες που έχουν προκύψει από την διαδικασία της κυτταρικής διαφοροποίησης μέσω της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης. Ως αποτέλεσμα, διαφορετικά γονίδια λειτουργούν σε αυτά τα δύο είδη κυττάρων (π.χ. στο μυϊκό κύτταρο λειτουργεί το γονίδιο της μυοσΐνης, ενώ στο ηπατικό κύτταρο το γονίδιο της α₁-αντιθρυψίνης) και άρα οι cDNA βιβλιοθήκες τους δεν θα είναι όμοιες. Εδώ θα πρέπει να τονίσουμε ότι παρότι τα δύο διαφοροποιημένα κύτταρα παράγουν διαφορετικές πρωτεΐνες, θα διαθέτουν και κοινές πρωτεΐνες που είναι απαραίτητες για τις βασικές λειτουργίες του κυττάρου. Για παράδειγμα και στις δύο cDNA βιβλιοθήκες θα υπάρχουν βακτηριακοί κλώνοι με το γονίδιο της RNA πολυμεράσης ή τα γονίδια για τις ιστόνες των νουκλεοσωμάτων.

ΘΕΜΑ Γ

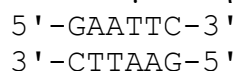
Γ1. Ως γονιδιακή έκφραση ορίζουμε τις πορείες της μεταγραφής και της μετάφρασης. Στα κύτταρα του μαστικού αδένου του διαγονιδιακού ζώου η έκφραση του γονιδίου της α₁-αντιθρυψίνης είναι δυνατή επειδή:

- Ένα γονίδιο για να μεταγραφεί θα πρέπει να υπάρχει ο κατάλληλος συνδυασμός μεταγραφικών παραγόντων και υποκινητή που να επιτρέπει την μεταγραφή του. Το γονίδιο της καζεΐνης εκφράζεται φυσιολογικά στα κύτταρα του μαστικού αδένου που παράγουν γάλα. Άρα η προσθήκη του γονιδίου της α₁-αντιθρυψίνης μέσα στο γονίδιο της καζεΐνης εξασφαλίζει την μεταγραφή του με την χρήση του υποκινητή του γονιδίου της καζεΐνης.
- Το mRNA που θα παραχθεί από την μεταγραφή θα μπορέσει να ωριμάσει καθώς το πρόβατο είναι ευκαρυωτικός οργανισμός και τα κύτταρά του διαθέτουν μηχανισμό ωρίμανσης.
- Η μετάφραση του γονιδίου θα μπορέσει να πραγματοποιηθεί καθώς τα ριβοσώματα μεταφράζουν οποιοδήποτε mRNA.
- Η πρωτεΐνη που θα παραχθεί θα έχει την σωστή αλληλουχία αμινοξέων, καθώς ο γενετικός κώδικας είναι καθολικός.
- Το πρόβατο διαθέτει στα κύτταρά του τους μηχανισμούς τροποποίησης των πρωτεϊνών μετά την παραγωγή τους (διαδικασίες που γίνονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στο σύστημα Golgi) οπότε η α₁-αντιθρυψίνη θα μπορέσει να τροποποιηθεί μετά την παραγωγή της για να αποκτήσει την λειτουργική της μορφή.

Γ2. Ο προσανατολισμός του τμήματος είναι:



καθώς γνωρίζουμε ότι η περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI που απομονώθηκε από το βακτήριο *E. coli*, όποτε συναντά την αλληλουχία:



στο γονιδίωμα, κόβει κάθε αλυσίδα μεταξύ του G και A (με κατεύθυνση 5' → 3') αφήνοντας μονόκλινα άκρα από αζευγάρωτες βάσεις στα κομμένα άκρα.

Το συγκεκριμένο τμήμα δεν είναι δυνατόν να κλωνοποιηθεί με την βοήθεια πλασμιδίου με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA. Το πλασμίδιο θα έπρεπε να κοπεί και αυτό με την EcoRI, με αποτέλεσμα να αποκτήσει μονόκλινα άκρα από αζευγάρωτες βάσεις και στα δύο του άκρα που θα προκύψουν κατά το κόψιμο. Όμως το τμήμα DNA

που δίνεται έχει μονώκλωνο άκρο με αζευγάρωτες βάσεις μόνο από την μία του μεριά (προφανώς ήταν ακραίο τμήμα γραμμικού μορίου DNA). Άρα δεν μπορεί να προσδεθεί και από τα δύο άκρα του με το πλασμίδιο, με αποτέλεσμα η DNA δεσμάση να μην μπορέσει να ξανακάνει κυκλικό μόριο το πλασμίδιο με την δράση της. Αφού το πλασμίδιο θα παραμείνει κομμένο είναι ακατάλληλο για φορέας κλωνοποίησης στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA.

Γ3. Διευκρίνιση από την Επιτροπή Θεμάτων του Υπουργείου:

Τα αντιγόνα Α και Β αναφέρονται στις ομάδες αίματος του συστήματος ABO.

Τα άτομα με ομάδα αίματος Α έχουν στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων τους αντιγόνο τύπου Α, ενώ άτομα ομάδας αίματος Β έχουν αντιγόνο Β. Ένα άτομο ομάδας αίματος ΑΒ έχει αντιγόνα Α και Β, ενώ ένα άτομο ομάδας αίματος Ο δεν έχει κανένα αντιγόνο. Οπότε από τα δεδομένα του πίνακα καταλαβαίνουμε ότι για τα μέλη της οικογένειας ισχύει:

$\Gamma_1 \rightarrow$ Ομάδα αίματος Ο
 $\Sigma_1 \rightarrow$ Ομάδα αίματος ΑΒ
 $\Sigma_2 \rightarrow$ Ομάδα αίματος Α
 $\Pi_1 \rightarrow$ Ομάδα αίματος Ο
 $\Pi_2 \rightarrow$ Ομάδα αίματος Β

Το γονίδιο I, που καθορίζει τις ομάδες αίματος, έχει τρία αλληλόμορφα. Τα I^A και I^B κωδικοποιούν τα ένζυμα που σχηματίζουν τα Α και Β αντιγόνα αντίστοιχα, ενώ το i δεν κωδικοποιεί κάποιο ένζυμο. Τα I^A και I^B είναι συνεπικρατή, ενώ το i είναι υπολειπόμενο. Άτομα ομάδας Α έχουν γονότυπο $I^A I^A$ ή $I^A i$. Άτομα ομάδας Β έχουν γονότυπο $I^B I^B$ ή $I^B i$, ενώ άτομα ΑΒ έχουν $I^A I^B$. Τα άτομα ομάδας Ο έχουν γονότυπο ii .

Οπότε οι πιθανοί γονότυποι για τα μέλη της οικογένειας είναι:

$\Gamma_1 \rightarrow ii$
 $\Sigma_1 \rightarrow I^A I^B$
 $\Sigma_2 \rightarrow I^A I^A$ ή $I^A i$
 $\Pi_1 \rightarrow ii$
 $\Pi_2 \rightarrow I^B I^B$ ή $I^B i$

Σύμφωνα με τον πρώτο νόμο του Mendel κάθε παιδί κληρονομεί ένα αλληλόμορφο από τον πατέρα και ένα από την μητέρα του. Η μητέρα (Γ_1) θα έχει δώσει σε όλα τα παιδιά της ένα i . Άρα το Π_2 θα πρέπει να έχει γονότυπο $I^B i$ και να έχει κληρονομήσει από τον πατέρα του ένα I^B . Παρατηρούμε ότι I^B αλληλόμορφο φέρει μόνο ο άντρας Σ_1 , άρα ο Σ_1 είναι ο πατέρας του παιδιού Π_2 , σύμφωνα με την διασταύρωση:

P: $ii \otimes I^A I^B$
 Γαμέτες: $i \quad I^A, I^B$
 F₁: $I^A i, I^B i$

Οπότε το παιδί Π_1 θα πρέπει να έχει πατέρα τον Σ_2 . Καθώς το Π_1 έχει γονότυπο ii ο πατέρας του πρέπει να έχει γονότυπο $I^A i$ για να του δώσει ένα i σύμφωνα με την διασταύρωση:

P: $ii \otimes I^A i$
 Γαμέτες: $i \quad I^A, i$
 F₁: $I^A i, ii$

Γ4. Η αύξηση την ποσότητα του mRNA του κυττάρου *E. coli* προφανώς θα σχετίζεται με την ενεργοποίηση του οπερονίου της λακτόζης.

Οι μηχανισμοί με τους οποίους ένα κύτταρο «ξυπνά» ένα «κοιμισμένο» γονίδιο είναι οι πιο σημαντικοί και πολύπλοκοι της Μοριακής Βιολογίας. Οι αρχικές μελέτες της ρύθμισης των γονιδίων έγιναν από τους Jacob και Monod, το 1961. Οι ερευνητές περιέγραψαν την ικανότητα του βακτηρίου *E. coli* να παραγάγει τα τρία απαραίτητα ένζυμα που χρειάζεται για να μεταβολίσει το δισακχαρίτη λακτόζη, όταν δεν υπάρχει γλυκόζη στην τροφή του. Οι Jacob και Monod απέδειξαν με γενετικές μελέτες ότι τα γονίδια που κωδικοποιούν τα τρία αυτά ένζυμα βρίσκονται το ένα δίπλα στο άλλο πάνω στο γονιδίωμα του βακτηρίου και αποτελούν μια μονάδα, που την ονόμασαν **οπερόνιο της λακτόζης**. Σε αυτό περιλαμβάνονται εκτός από αυτά τα γονίδια, που ονομάζονται δομικά, και αλληλουχίες DNA που ρυθμίζουν τη μεταγραφή τους. Οι αλληλουχίες αυτές που βρίσκονται μπροστά από τα δομικά γονίδια είναι κατά σειρά ένα ρυθμιστικό γονίδιο, ο υποκινητής και ο χειριστής.

Το οπερόνιο της λακτόζης δε μεταγράφεται ούτε μεταφράζεται, όταν απουσιάζει από το θρεπτικό υλικό η λακτόζη. Τότε λέμε ότι τα γονίδια που το αποτελούν βρίσκονται υπό καταστολή. Άρα στην καλλιέργειά μας, όσο τα βακτήρια τρέφονταν από την άλλη πηγή C του θρεπτικού υλικού, το οπερόνιο της λακτόζης ήταν υπό καταστολή.

Η καταστολή επιτυγχάνεται με δύο ρυθμιστικά μόρια: μια αλληλουχία DNA, που ονομάζεται χειριστής και βρίσκεται μεταξύ του υποκινητή και του πρώτου γονιδίου, και μια ρυθμιστική πρωτεΐνη - καταστολέας. Όταν απουσιάζει η λακτόζη ο καταστολέας προσδένεται ισχυρά στο χειριστή και εμποδίζει την RNA πολυμεράση να αρχίσει τη μεταγραφή των γονιδίων του οπερονίου. Ο καταστολέας κωδικοποιείται από ένα ρυθμιστικό γονίδιο, που βρίσκεται μπροστά από τον υποκινητή. Το ρυθμιστικό γονίδιο μεταγράφεται συνεχώς και παράγει λίγα μόρια του καταστολέα. Τα μόρια αυτά προσδένονται συνεχώς στο χειριστή.

Μετά την εξάντληση της πηγής C και την προσθήκη λακτόζης, στο θρεπτικό υλικό υπάρχει μόνο λακτόζη, και τότε ο ίδιος ο δισακχαρίτης προσδένεται στον καταστολέα και δεν του επιτρέπει να προσδεθεί στο χειριστή.

Οπότε την χρονική στιγμή t_1 η RNA πολυμεράση είναι ελεύθερη να αρχίσει τη μεταγραφή του οπερονίου. Δηλαδή η λακτόζη λειτουργεί ως επαγωγέας της μεταγραφής των γονιδίων του οπερονίου. Τότε τα γονίδια αρχίζουν να «εκφράζονται», δηλαδή να μεταγράφονται και να συνθέτουν τα ένζυμα.

Η διαρκής αύξηση, για κάποιο διάστημα, της ποσότητας του mRNA μετά την χρονική στιγμή t_1 οφείλεται στο γεγονός ότι πολλά μόρια mRNA μπορούν να μεταγράφονται από το οπερόνιο της λακτόζης όσο ο δισακχαρίτης υπάρχει στο θρεπτικό υλικό του βακτηρίου.

Έξτρα ερμηνευτικό κομμάτι - ΔΕΝ ΑΠΑΙΤΕΙΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΠΑΝΤΗΣΗ -

Η σταθεροποίηση της ποσότητας του mRNA μετά από κάποιο χρονικό διάστημα οφείλεται στο γεγονός ότι τα μόρια mRNA έχουν συγκεκριμένη διάρκεια ζωής μέσα στο κύτταρο. Μετά από κάποιο χρονικό διάστημα η παραγωγή νέων μορίων mRNA θα είναι όση και η καταστροφή παλιών μορίων mRNA και έτσι η ποσότητα θα παραμένει αμετάβλητη.

ΘΕΜΑ Δ

Δ1. Γνωρίζουμε ότι το 6^ο αμινοξύ της φυσιολογικής β-αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης HbA είναι το γλουταμινικό οξύ και κωδικοποιείται (στην κωδική αλυσίδα του DNA) από το

*Επιμέλεια: Μαβίδης Μιχάλης
Δρ. Βιολογίας*

κωδικόνιο GAG, ενώ το 6^ο αμινοξύ της β^S-αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης HbS είναι η βαλίνη και κωδικοποιείται (στην κωδική αλυσίδα του DNA) από το κωδικόνιο GTG. Επίσης από την εκφώνηση γνωρίζουμε ότι κατά την τροποποίηση της β-αλυσίδας μετά την παραγωγή της, το πρώτο αμινοξύ (η μεθειονίνη που αντιστοιχεί και στο κωδικόνιο έναρξης) απομακρύνεται. Άρα το 6^ο αμινοξύ της πρωτεΐνης στην πραγματικότητα αντιστοιχεί στο 7^ο κωδικόνιο του mRNA και κατ' επέκταση και της κωδικής αλυσίδας του DNA.



Εικόνα 4

Άρα στο φυσιολογικό γονίδιο στην κωδική αλυσίδα θα έχουμε μια τριπλέτα ATG και μετά από 5 ακόμα τριπλέτες θα πρέπει να έχουμε GAG με προσανατολισμό 5'→3'. Από την εικόνα 4 παρατηρούμε ότι αυτό συμβαίνει στην αλυσίδα (A) της αλληλουχίας III και άρα η αλληλουχία III πρέπει να αντιστοιχεί στο φυσιολογικό αλληλόμορφο.

Αντίστοιχα στο γονίδιο της αλυσίδας β^S στην κωδική αλυσίδα θα έχουμε μια τριπλέτα ATG και μετά από 5 ακόμα τριπλέτες θα πρέπει να έχουμε GTG με προσανατολισμό 5'→3'. Από την εικόνα 4 παρατηρούμε ότι αυτό συμβαίνει στην πάνω αλυσίδα της αλληλουχίας I και άρα η αλληλουχία I πρέπει να αντιστοιχεί στο αλληλόμορφο της αλυσίδας β^S.

- Δ2. Ναι, η αλληλουχία που απομένει θα μπορούσε να αντιστοιχεί σε γονίδιο που προκαλεί β-θαλασσαιμία. Στις σοβαρότερες περιπτώσεις της β-θαλασσαιμίας δεν έχουμε σύνθεση της β-αλυσίδας. Συγκρίνοντας την αλληλουχία II με τη φυσιολογική αλληλουχία III, παρατηρούμε ότι στην αλληλουχία II, στην κωδική αλυσίδα, έχουμε την προσθήκη μιας C μέσα στο κωδικόνιο έναρξης του γονιδίου. Ως αποτέλεσμα, δεν υπάρχει κωδικόνιο έναρξης και η αλυσίδα II δεν μπορεί να παράγει κάποια πρωτεΐνη.

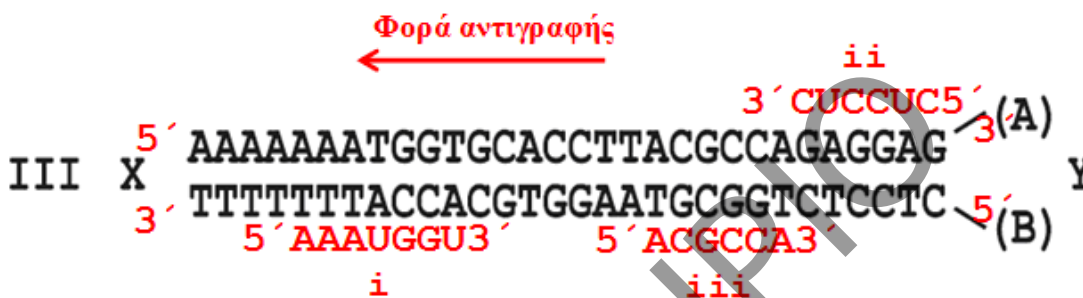


Εικόνα 4

Δ3. Οι απαντήσεις χωρίς αιτιολόγηση είναι :

- η θέση έναρξης της διχάλας της αντιγραφής βρίσκεται στην **θέση Y**.
- Η αλυσίδα A αντιγράφεται συνεχώς ενώ η αλυσίδα B αντιγράφεται ασυνεχώς
- Στην ασυνεχή αλυσίδα πρώτο συντίθεται το πρωταρχικό τμήμα **iii**.

Παρακάτω δίνεται η σχηματική αιτιολόγηση που δεν απαιτείται στην απάντηση



Δ4. Η β-θαλασσαιμία και η δρεπανοκυτταρική αναιμία είναι δύο ασθένειες που οφείλονται σε διαφορετικές μεταλλάξεις του ίδιου γονιδίου, του γονιδίου που παράγει την β-αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης HbA. Άρα τα γονίδια που προκαλούν τις ασθένειες είναι αλληλόμορφα μεταξύ τους. Έστω:

B = αλληλόμορφο για φυσιολογική β-αλυσίδα

β^S = αλληλόμορφο για δρεπανοκυτταρική αναιμία (β^S αλυσίδα)

β = αλληλόμορφο για β-θαλασσαιμία (ελαττωμένη παραγωγή ή μη παραγωγή της β-αλυσίδας)

Ένας φορέας είναι ένα ετερόζυγο άτομο με ένα φυσιολογικό αλληλόμορφο και ένα αλληλόμορφο που προκαλεί ασθένεια. Άρα ένας φορέας δρεπανοκυτταρικής αναιμίας θα έχει γονότυπο $B\beta^S$, ενώ ένας φορέας μεσογειακής αναιμίας θα έχει γονότυπο $B\beta$.

Άρα, σύμφωνα με τον πρώτο νόμο του Mendel έχουμε την διασταύρωση:

P: $B\beta^S \otimes B\beta$

Γαμέτες: B, β^S B, β

F₁: BB, $B\beta^S$, $B\beta$, $\beta^S\beta$

Οπότε οι πιθανοί γονότυποι των απογόνων που προκύπτουν από τη διασταύρωση των δύο φορέων είναι:

BB

$B\beta^S$

$B\beta$

$\beta^S\beta$