

Κυτταρική θεωρία - πρωτεΐνες – ένζυμα - πυρήνας - ημιαυτόνομα οργανίδια – μίτωση- μείωση - γενετικό υλικό – αντιγραφή - έκφραση - ρύθμιση γονιδίων - τεχνολογία Ανασυνδυασμένου DNA

**ΘΕΜΑ Α**

1. Δίνεται η παρακάτω αλληλουχία που περιέχει μικρό γονίδιο το οποίο κωδικοποιεί μικρό ολιγοπεπτίδιο. Με δεδομένο ότι ο φορέας κλωνοποίησης που θα χρησιμοποιηθεί φέρει μοναδική θέση ανασυνδυασμού για περιοριστική ενδονουκλεάση που αφήνει μονόκλιωνα άκρα και είναι όμοια με αυτή που θα χρησιμοποιηθεί για την πέψη του μορίου DNA που δίνεται, να προσδιοριστεί η αλληλουχία αναγνώρισης της περιοριστικής ενδονουκλεάσης.

**ATCGACTGCTCTAGAAGCTTATGCCAGGTATGTGAAAGCTTATCGACTGAACCTT  
TAGCTGACGAGATCTTCGAATACGGTCCATACACTTTCGAATAGCTGACTTGGAA**

α. 5' ATCGAC  
TAGCTG

β. CCAGG5'  
GGTCC

γ. 5' AAGCTT  
TTCGAA

δ. δεν υπάρχει κάποια κατάλληλη θέση περιορισμού.

2. Τα κεντροσώματα είναι:

α. δομές των φυτικών κυττάρων

β. απαραίτητα συστατικά των κυττάρων για τον αυτοδιπλασιασμό του DNA τους

γ. πρωτεϊνικές δομές των ζωικών κυττάρων

δ. δομικές πρωτεΐνες των οργανιδίων με διπλή στοιχειώδη μεμβράνη.

3. Το πείραμα του 1952 πραγματοποιήθηκε με την χρήση:

α. ιχνηθετημένου ανιχνευτή

β. ιχνηθετημένου <sup>15</sup>N

γ. ιχνηθετημένου <sup>32</sup>P

δ. ιχνηθετημένων λ-φάγων.

4. Το χλωρόφυτο *Acetabularia sp.* είναι μονοκύτταρος οργανισμός με διαφοροποιημένα τμήματα (βάση –με πυρήνα–, μίσχο και καπέλο) και έχει διαστάσεις περίπου 1 cm. Το πρωτόζωο *Tetrahymena sp.* διαθέτει μοναδικό σφαιρικό κύτταρο με δυο πυρήνες. Τέλος, οι υφομόκητες, όπως οι μούχλες, και τα μυϊκά κύτταρα των ζώων διαθέτουν κοινοκυτταρικές και πολυπυρηνικές δομές. Όλα τα παραπάνω:

α. αποτελούν εξαιρέσεις του κανόνα που είναι η κυτταρική θεωρία

β. υπάγονται όπως άλλωστε και κάθε κύτταρο και οργανισμός αυτή τη στιγμή στη Γη, στην κυτταρική θεωρία

γ. όλα τα παραπάνω είναι προϊόντα κυτταρικής διαφοροποίησης

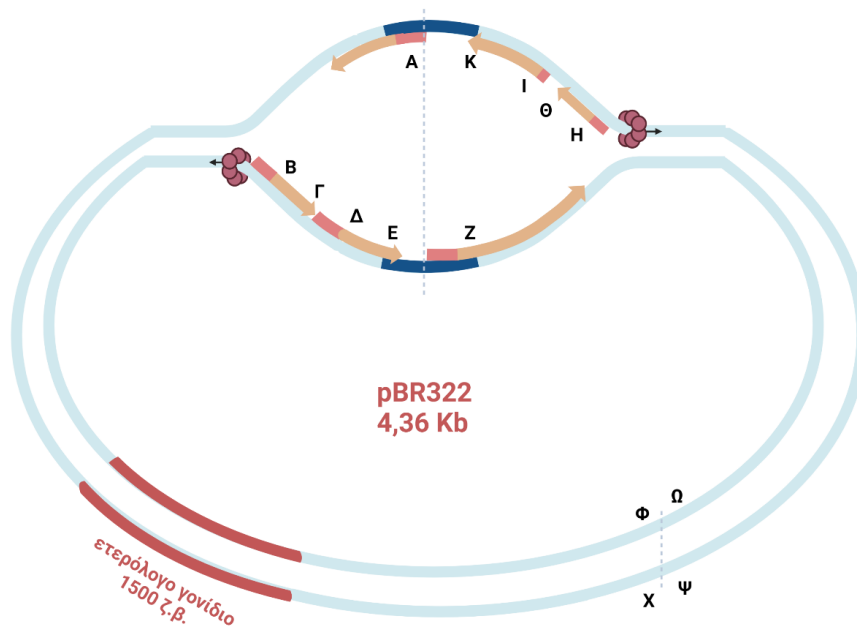
δ. αυτές οι δομές και έμβια όντα είναι τόσο αρχέγονα που εμφανίστηκαν πριν από τις σημερινές δύο καθολικότητες της ζωής, το δόγμα της μοριακής βιολογίας και τον λόγο  $\frac{A+C}{T+G} = 1$ .

5. Δίνονται δύο διαφορετικά είδη οργανισμών που και τα δύο διαθέτουν  $2n=4$  χρωμοσώματα. Στους οργανισμούς αυτούς δεν υπάρχει φυλετικός καθορισμός. Εξετάζονται δύο γονίδια στους δύο οργανισμούς που κωδικοποιούν για τις ίδιες πρωτεΐνες. Στον έναν οργανισμό και οι δύο γενετικοί τόποι βρίσκονται στο ίδιο χρωμόσωμα (ο ένας στον βραχίονα p και ο άλλος στον βραχίονα q) αμφότεροι μακριά από το κεντρομερίδιο. Στον άλλο οργανισμό, βρίσκονται και οι δύο στον βραχίονα q, όμως διαφορετικού ζεύγους χρωμοσωμάτων. Έστω ότι εξετάζονται δύο τέτοιοι οργανισμοί με σύσταση ΑαΒβ αμφότεροι. Πόσους διαφορετικούς γαμέτες μπορούν να δημιουργήσουν οι οργανισμοί αυτοί ως προς τα γονίδια που αναφέρθηκαν; *Λαμβάνονται υπόψη όλοι οι μηχανισμοί που οδηγούν σε γενετική παραλλακτικότητα κατά τη μείωση:*

- α. 8 και 2
- β. 4 και 4
- γ. 6 και 6
- δ. 4 και 1.

## ΘΕΜΑ Β [www.nikimargriti.com](http://www.nikimargriti.com)

1. Δίνεται η θηλειά της αντιγραφής ενός πλασμιδιακού φορέα κλωνοποίησης, κατά την κλωνοποίησή του. Το μέγεθος του μη ανασυνδυσασμένου φορέα είναι 4.360 ζ.β.



- α. Να υποδείξετε σε ποια από τα σημεία Α έως Κ θα δράσει το ένζυμο DNA δεσμάση κατά την διαδικασία κλωνοποίησης του φορέα εντός του ξενιστή.
- β. Με δεδομένο ότι κατά την κλωνοποίηση του ανασυνδυασμένου φορέα το ετερόλογο τμήμα αντιγράφηκε σε 20 sec, να υπολογιστεί ο χρόνος κλωνοποίησης ολόκληρου του ανασυνδυασμένου φορέα.
- γ. Να τοποθετηθούν οι προσανατολισμοί στα σημεία Φ, Χ, Ψ, Ω του σχήματος.
2. Ένα τμήμα χρωμοσωμικού DNA του μύκητα *Aspergillus niger* επωάζεται με *EcoRI* αρχικά και προκύπτουν 2 θραύσματα, μήκους 1000 και 3000 ζ.β.  
Ένα όμοιο τμήμα επώαστηκε με *PstI* και αποδίδει πάλι δύο θραύσματα, μήκους 1500 και 2500 ζ.β.  
Όταν ένα όμοιο τμήμα DNA επώαστηκε με *EcoRI* και *PstI* ταυτοχρόνως, αποδόθηκαν τρία θραύσματα μήκους 500 ζ.β., 1000 ζ.β. και 2500 ζ.β.  
Σχεδιάστε ένα απλό σχήμα που να παρουσιάζει τις θέσεις αναγνώρισης των δύο ενζύμων και την σχετική τους απόσταση μεταξύ τους.
3. Με δεδομένο ότι κάθε αποικία της βιβλιοθήκης αποτελείται από 1 δις κύτταρα και κάθε κύτταρο κλωνοποιεί τον πλασμιακό φορέα κλωνοποίησης τρεις φορές σε ποια βιβλιοθήκη θα βρούμε περισσότερα αντίγραφα της κωδικοποιούσας περιοχής του ανθρώπινου γονιδίου του κολλαγόνου, με μήκος περίπου 100.000 ζεύγη βάσεων στο γονιδίωμα  
γονιδιωματική βιβλιοθήκη του γαμέτη μας;  
γονιδιωματική βιβλιοθήκη του ιστού που εκφράζει το γονίδιο αυτό.  
γονιδιωματική βιβλιοθήκη ενός ιστού που δεν εκφράζει αυτό το γονίδιο.  
cDNA βιβλιοθήκη από ιστό που εκφράζει το γονίδιο.  
cDNA βιβλιοθήκη από ιστό που δεν εκφράζει το γονίδιο  
cDNA βιβλιοθήκη γαμέτη μας.  
i. Να τοποθετηθούν με αύξουσα σειρά αντιγράφων. Να αιτιολογηθεί η απάντησή σας.  
ii. Σε πόσες αποικίες θα βρίσκεται το γονίδιο σε κάθε βιβλιοθήκη;  
iii. Ποσά εσώνια περιέχει, πόσες φορές κόπηκε κατά την δημιουργία των βιβλιοθηκών;

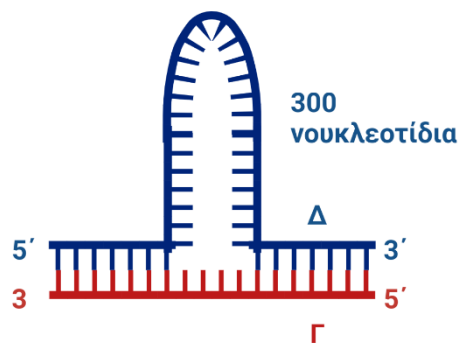
### **ΘΕΜΑ Γ**

1. Δίνεται ότι έχετε στη διάθεσή σας δύο δοκιμαστικούς σωλήνες, έναν με πλασμίδια και έναν με βακτηριοφάγους λ. Επίσης διαθέτετε ανθρώπινα παγκρεατικά κύτταρα και κύτταρα *E.coli*.  
Έχετε την πρόθεση να δημιουργήσετε γονιδιωματικές βιβλιοθήκες και για τα δύο είδη κυττάρων. Θεωρώντας ότι έχετε στη διάθεσή σας όλα τα ένζυμα, τα υλικά και ότι είναι απαραίτητο για να κατασκευαστεί μία γονιδιωματική βιβλιοθήκη, να απαντήσετε στα παρακάτω ερωτήματα.
- α) Ποιος συνδυασμός κυττάρων και φορέων κλωνοποίησης θα οδηγήσει γρηγορότερα στη δημιουργία γονιδιωματικής βιβλιοθήκης;
- β) Ποιος συνδυασμός κυττάρων και φορέων κλωνοποίησης θα οδηγήσει στη δημιουργία γονιδιωματικής βιβλιοθήκης με τους περισσότερους διαφορετικούς κλώνους;

2. Στο φυτό *Zea mays* μελετήθηκε η παραγωγή μίας μυκητοκτόνου δραστικής ουσίας που παράγει το φυτό. Η ουσία είναι άμεσο προϊόν της δράσης μίας πρωτεΐνης αποτελούμενης από τρεις υπομονάδες 2 μικρότερου Mr όμοιες μεταξύ τους και 1 μεγαλύτερου Mr μοναδικής στο μόριο της πρωτεΐνης. Από τις μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στα φυτικά κύτταρα που παράγουν την μυκητοκτόνο ουσία, προέκυψαν οι εξής παρατηρήσεις:
- Μεταγράφεται μόνο ένας γενετικός τόπος του φυτικού γονιδιώματος μήκους 1700 ζ.β.
  - Προκύπτει μόνο ένα πρόδρομο μόριο mRNA μήκους 1500 nt.
  - Από την ωρίμανση του προδρόμου μορίου προκύπτουν δύο μόρια.
  - Οι δύο λειτουργικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες που δομούν την πρωτεΐνη σχηματισμού της μυκητοκτόνου ουσίας διαφέρουν από τα πρόδρομα πολυπεπτίδια τους μόνο κατά την απουσία της αρχικής μεθειονίνης.
  - Στο γονίδιο εντοπίζονται δύο 5' αμετάφραστες περιοχές, δύο 3' αμετάφραστες περιοχές, δύο κωδικόνια έναρξης και δύο κωδικόνια λήξης.



WW



Σε πειράματα υβριδισμού μεταξύ των προϊόντων της ωρίμανσης και του γονιδίου που τα κωδικοποιεί, ποιο μόριο είναι DNA και ποιο RNA στο σχήμα που δίνεται; (4)

Ποια από τις δύο αλυσίδες του γονιδίου είναι το μόριο DNA που χρησιμοποιήθηκε για τον υβριδισμό;

(1)

α. Να τοποθετηθούν οι προσανατολισμοί όλων των κλώνων που φαίνονται στο σχήμα.

(3)

β. Με ποιο τρόπο οι ερευνητές μπορούν να διαπιστώσουν ποιο πολυπεπτίδιο κωδικοποιείται από αυτό το γονίδιο;

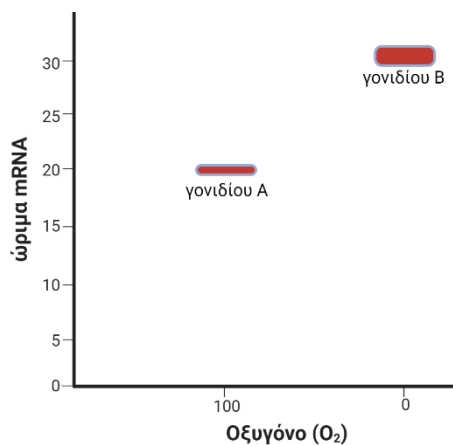
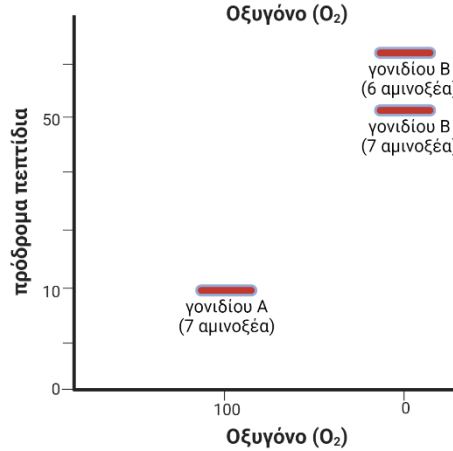
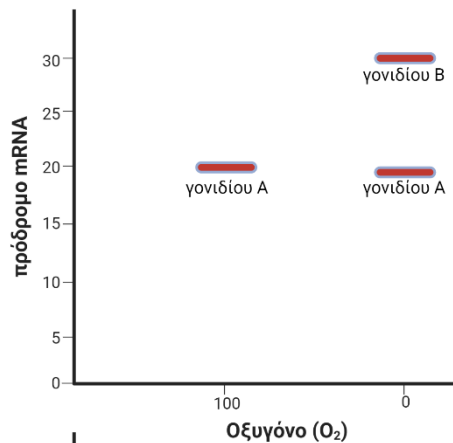
γ. Από τις παρατηρήσεις που πραγματοποίησαν οι επιστήμονες διαπίστωσαν ότι το σύνολο των υπομονάδων που δομούν τη ζητούμενη πρωτεΐνη κωδικοποιούνται από τον ίδιο γενετικό τόπο. Δώστε μία εξήγηση για το πώς μπορεί να γίνεται αυτό σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο.

δ. Σε ποιο επίπεδο οργάνωσης φτάνει η ζητούμενη πρωτεΐνη; Και ποιο ρόλο έχει στα κύτταρα;

**ΘΕΜΑ Δ**

1. Στα ινδικά χοιρίδια πραγματοποιούνται μελέτες της φυσιολογίας των μυών σε αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες. Κατά τις μελέτες εξετάζονται δύο γονίδια και τα προϊόντα τους, που είναι πολυπεπίδια.

Υπόμνημα: Το πάχος των ζωνών στα γραφήματα υποδηλώνει ποσότητα βιολογικού μακρομορίου. Οι άξονες υποδηλώνουν συγκέντρωση των βιολογικών μακρομορίων στο κύτταρο.



rgriti.com

## [Νίκη Μαργαρίτη]

Περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι κατά την ωρίμανση του προδρόμου mRNA του γονιδίου B αφαιρούνται συνολικά 2 μόρια H<sub>2</sub>O από το κύτταρο. Ομοίως και για το γονίδιο A κατά την ωρίμανσή του.

Δίνονται και οι αλληλουχίες των δύο γονιδίων και των εσωνίων τους. Αυτές είναι:

Γονίδιο A

**TATGCAATGGTACACCCATAATGCAGGTTAAACTTTTCGTATGGAGTACCAGCATTCTTGG<sup>5'</sup>  
ATACGTTACCATGTGGGTATTACGTC<sup>3'</sup>CAATTTGAAAGCATACCTCATGGTCGTAAGAACC**

ΕΣΩΝΙΟ (A)

Γονίδιο B

**GGATCCTAGATGCCTGAGGATCTCATGAGGTATATACCCAGCGCATCCGGATCCAACGTACATCCGGAT  
CC<sup>3'</sup>  
CCTAGGATCTACGGACTCCTAGAGTACTCCATATATGGGTCGCGTAGGCCTAGGTTGCATGTAGGCCTA  
GG**

ΕΣΩΝΙΟ (B)

- Να ερμηνευθούν τα δοθέντα διαγράμματα.
  - Να ερμηνευθούν τα δοθέντα διαγράμματα με βάση τις αλληλουχίες των γονιδίων A και B.
  - Εξηγήστε για ποιο λόγο τα γονίδια A και B ρυθμίζονται κατά τον τρόπο αυτό σε συνθήκες υποξίας.
  - Σε ποιο επίπεδο πραγματοποιείται η ρύθμιση του γονιδίου A σε συνθήκες υποξίας;
2. Οι επιστήμονες ενδιαφέρονται να απαντήσουν στα παρακάτω ερωτήματα:

**A. Η περιοριστική ενδονουκλεάση *EcoRI* προκαλεί ενζυμικά:**

- διάσπαση 2 δ.Η και 8 P-δ
- διάσπαση 2 P-δ και 8 δ.Η
- διάσπαση μόνο P-δ
- διάσπαση μόνο δ.Η.

Για τον σκοπό αυτό σχεδίασαν ένα απλό πείραμα. Πραγματοποίησαν δυο όμοια πειράματα με μονή μεταβλητή την θερμοκρασία (44° C και 14° C). Σε κάθε πείραμα επώασαν πλασμίδια pBR322 με μοναδική θέση αναγνώρισης *EcoRI* με την περιοριστική ενδονουκλεάση *EcoRI*. Στον πρώτο δοκιμαστικό σωλήνα τα πλασμίδια έγιναν γραμμικά στον δεύτερο δοκιμαστικό σωλήνα τα πλασμίδια έμειναν κυκλικά αλλά ήταν εύθραυστα σε ένα σημείο τους.

Σε ποια από τις παραπάνω επιλογές κατέληξαν οι επιστήμονες μετά από τα αποτελέσματα των πειραμάτων τους; Αιτιολογείστε την επιλογή που κάνατε.

**B. Γίνεται PCR σε κυκλικό μόριο όπως ένα πλασμίδιο;**

Για τον σκοπό αυτό σχεδίασαν ένα απλό πείραμα. Πραγματοποίησαν PCR στο pBR322 το οποίο έχει μέγεθος 3200 ζ.β. μετά από 5 κύκλους αντιγραφής έλαβαν 32 μόρια DNA μεγέθους 3200 ζ.β. τα οποία στην συνέχεια επώασαν με *EcoRI*, οπότε προέκυψαν 63 μόρια DNA εκ των οποίων μόνο 1 είχε μήκος 3200 ζ.β.

Σε ποια συμπεράσματα κατέληξαν οι επιστήμονες ως προς το PCR κυκλικών μορίων;

**Καλή επιτυχία !**

[Νίκη Μαργαρίτη]

[www.nikimargriti.com](http://www.nikimargriti.com)