

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 ¹⁵N
- γ. ιχνηθετημένου ³²P
- 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 υφομύκητες, όπως οι μούχλες αλλά 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 (A και B) 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 γενετικοί τόποι στον βραχίονα q, όμως διαφορετικού ζεύγους χρωμοσωμάτων.

Έστω ότι εξετάζονται δύο τέτοιοι οργανισμοί με σύσταση AaBb αμφότεροι. Πόσους διαφορετικούς γαμέτες, μπορούν να δημιουργήσουν οι οργανισμοί αυτοί ως προς τα γονίδια που αναφέρθηκαν;

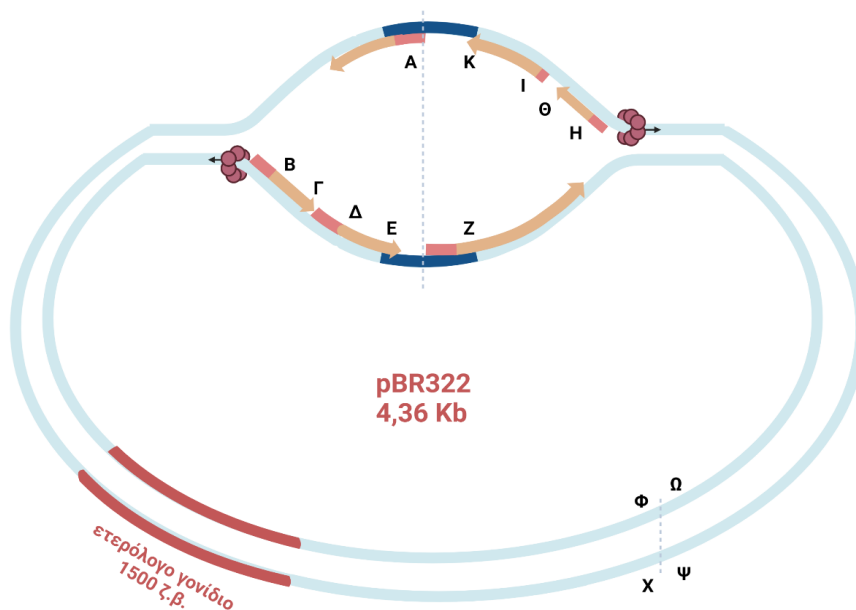
Λαμβάνονται υπόψη όλοι οι μηχανισμοί που οδηγούν σε γενετική παραλλακτικότητα κατά τη μείωση:

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

www.nikimargriti.com

ΘΕΜΑ Β

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



[Νίκη Μαργαρίτη]

- α. Να υποδείξετε σε ποια από τα σημεία A έως K, 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 δυο θραύσματα, μήκους 1.000 και 3.000 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., 1.000 ζ.β. και 2.500 ζ.β.
Σχεδιάστε ένα απλό σχήμα που να παρουσιάζει τις θέσεις αναγνώρισης των δύο ενζύμων και την σχετική τους απόσταση, μεταξύ τους.
3. Γνωρίζουμε ότι κάθε αποικία της βιβλιοθήκης αποτελείται από 1 δις κύτταρα και κάθε κύτταρο, κλωνοποιεί τον πλασμιδιακό φορέα κλωνοποίησης (μεγέθους 4.000 ζ.β.) τρεις φορές. Ακόμη γνωρίζουμε ότι μια φαγική πλάκα αποτελείται από 3×10^{11} φαγούς σε μια βιβλιοθήκη, με φορέα κλωνοποίησης DNA λ-φάγου.
Να απαντήσετε σε ποια βιβλιοθήκη, από τις παρακάτω, θα βρούμε περισσότερα αντίγραφα της μεταφράσιμης περιοχής του ανθρώπινου γονιδίου του κολλαγόνου (COL I), με μήκος περίπου 100.000 ζεύγη βάσεων στο γονιδίωμα μας;
Το γονίδιο αυτό διαθέτει 52 εξώνια και για την πλασμιδιακή βιβλιοθήκη χρησιμοποιήθηκε η περιοριστική ενδονουκλεάση *EcoRI*. Το γονίδιο όταν εκφράζεται απαντάται σε μέγιστη ποσότητα 100 αντίγραφα μορίων mRNA του/ κύτταρο.
[Γονιδιωματική βιβλιοθήκη του γαμέτη μας.](#)
[Γονιδιωματική βιβλιοθήκη του ιστού που εκφράζει το γονίδιο αυτό.](#)
[Γονιδιωματική βιβλιοθήκη ενός ιστού που δεν εκφράζει αυτο το γονίδιο.](#)
[cDNA βιβλιοθήκη από ιστό που εκφράζει το γονίδιο.](#)
[cDNA βιβλιοθήκη από ιστό που δεν εκφράζει το γονίδιο.](#)
[cDNA βιβλιοθήκη γαμέτη μας.](#)
[Γονιδιωματική βιβλιοθήκη γαμέτη μας, με φορέα κλωνοποίησης DNA λ-φάγου.](#)
- i. Να τοποθετηθούν οι παραπάνω βιβλιοθήκες με αύξουσα σειρά, σε πλήθος αντιγράφων του μελετώμενου γονιδίου. Να αιτιολογηθεί με συντομία η απάντησή σας.
ii. Σε πόσες αποικίες ή φαγικές πλάκες θα βρίσκεται το γονίδιο σε κάθε βιβλιοθήκη;
iii. Ποσά εσώνια περιέχει το γονίδιο του ανθρώπινου κολλαγόνου;
iv. Πόσα μόρια νερού ξοδεύτηκαν από το κύτταρο για την αφαίρεση των εσωνίων του;
Ποιο ήταν το ισοζύγιο του νερού για το κύτταρο, κατά την δημιουργία του μορίου του ώριμου mRNA του γονιδίου αυτού.
v. Πόσες φορές κόπηκε το γονίδιο του κολλαγόνου κατά την δημιουργία των παραπάνω βιβλιοθηκών;

ΘΕΜΑ Γ

1. 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, δυο μικρότερου Mr, όμοιες μεταξύ τους και μια μεγαλύτερου Mr, μοναδικής στο μόριο της πρωτεΐνης. Από τις μελέτες που

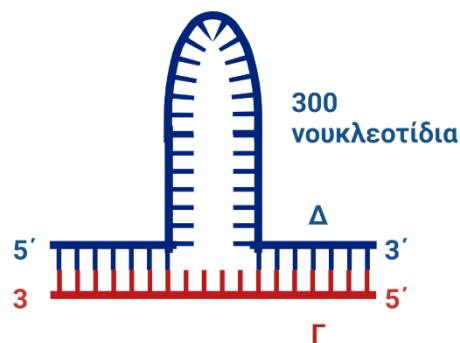
[Νίκη Μαργαρίτη]

πραγματοποιήθηκαν στα φυτικά κύτταρα που παράγουν την μυκητοκτόνο ουσία, προέκυψαν οι εξής παρατηρήσεις:

- i) Μεταγράφεται μόνο ένας γενετικός τόπος του φυτικού γονιδιώματος μήκους 1700 ζ.β.
- ii) Προκύπτει μόνο ένα πρόδρομο μόριο mRNA μήκους 1500 nt.
- iii) Από την ωρίμανση του προδρόμου μορίου προκύπτουν δύο μόρια.
- iv) Οι δύο διαφορετικές λειτουργικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες που δομούν την πρωτεΐνη σχηματισμού της μυκητοκτόνου ουσίας διαφέρουν από τα πρόδρομα πολυπεπίδια τους μόνο κατά την απουσία της αρχικής μεθειονίνης.
- v) Στο γονίδιο εντοπίζονται δύο 5'αμετάφραστες περιοχές, δύο 3'αμετάφραστες περιοχές (οι δυο 5'αμετάφραστες προηγούνται αμφότερες των δυο 3'αμετάφραστων περιοχών), δύο κωδικόνια έναρξης και δύο κωδικόνια λήξης.



WW



Σημείωση: Τα σχήματα δεν δίνονται υπό κλίμακα.

- α. Σε πειράματα υβριδισμού μεταξύ των προϊόντων της ωρίμανσης και του γονιδίου που τα κωδικοποιεί, ποιο μόριο είναι DNA και ποιο RNA στα σχήματα που δίνονται; (4)
 - β. Ποια από τις δύο αλυσίδες του γονιδίου είναι το μόριο DNA, που χρησιμοποιήθηκε για τον υβριδισμό; (1)
 - γ. Με ποιο τρόπο οι ερευνητές μπορούν να διαπιστώσουν ποιο πολυπεπίδιο κωδικοποιείται από αυτό το γονίδιο;
 - δ. 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.
 - ε. Σε ποιο επίπεδο οργάνωσης φτάνει η ζητούμενη πρωτεΐνη; Ποιο πιθανό ρόλο έχει στα κύτταρα;
2. Οι επιστήμονες ενδιαφέρονται να απαντήσουν στα παρακάτω ερωτήματα:

A. Η περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI προκαλεί ενζυμικά:

- α. διάσπαση 2 δ.Η και 8 P-δ
- β. διάσπαση 2 P-δ και 8 δ.Η

[Νίκη Μαργαρίτη]

γ. διάσπαση μόνο P-δ

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 ενίσχυση με μέθοδο PCR σε κυκλικό μόριο, όπως ένα πλασμίδιο;

Για τον σκοπό αυτό σχεδίασαν ένα απλό πείραμα. Πραγματοποίησαν PCR στο pBR322 το οποίο έχει μέγεθος 3.200 ζ.β. μετά από 5 κύκλους αντιγραφής, έλαβαν 32 μόρια DNA μεγέθους 3.200 ζ.β., τα οποία στην συνέχεια επώασαν με *EcoRI*, οπότε προέκυψαν 63 μόρια DNA εκ των οποίων μόνο ένα είχε μήκος 3.200 ζ.β.

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

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 ολιγοπεπτίδια.

Περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι κατά την ωρίμανση του προδρόμου mRNA του γονιδίου B αφαιρούνται συνολικά δυο μόρια H₂O 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^{5'}
ATACGTTACCATGTGGGTATTACGTC~~CAATTTGAAAGCATACCTCATGGTCGTAAGAACC~~

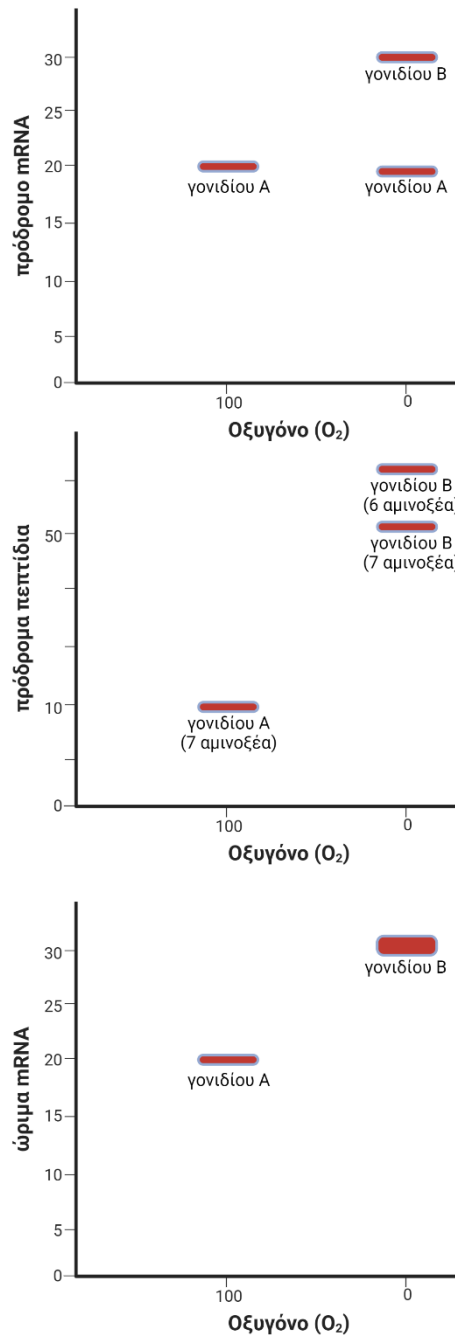
ΕΣΩΝΙΟ (A)

Γονίδιο B

GGATCCTAGATGCCTGAGGATCTCATGAGGTATATACCCAGCGCATCCGGATCCAACGTACATCCGGATCC^{3'}
CCTAGGATCTACGGACTCCTAGAGTACTCCATATATGGGTCGCGTAGGCCTAGGTTGCATGTAGGCCTAGG

ΕΣΩΝΙΟ (B)

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



rgriti.com

- 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;

Καλή επιτυχία !