

# ΒΙΟΛΟΓΙΑ

ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΥ ΘΕΤΙΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ 2017

## ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ

### ΘΕΜΑ Α

A1: δ

A2: δ

A3: β

A4: γ

A5: α

### ΘΕΜΑ Β

B1. I – Α , II – Ε , III – ΣΤ , IV – Β , V – Ζ , VII – Γ , VII - Δ

B2. Η εικόνα 1 αντιστοιχεί σε προκαρυωτικό κύτταρο. Αυτό γιατί γνωρίζουμε ότι στους προκαρυωτικούς οργανισμούς το mRNA αρχίζει να μεταφράζεται σε πρωτεΐνη πριν ακόμη ολοκληρωθεί η μεταγραφή του. Αυτό είναι δυνατό, επειδή δεν υπάρχει πυρηνική μεμβράνη.

B3. Ένα επιλεγμένο αντιγόνο, στη συγκεκριμένη περίπτωση η ορμόνη χοριακή γοναδοτροπίνη, 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 συντήκονται 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 μονοκλωνικά αντίσωμα σε μεγάλες ποσότητες.

Τα αντισώματα που θα παραθούν με την παραπάνω διαδικασία θα χρησιμοποιηθούν για την εξακρίβωση (τεστ) της κύησης.

B4. Το σύνολο των βακτηριακών κλώνων περιέχει το συνολικό DNA του οργανισμού δότη και αποτελεί μία γονιδιωματική βιβλιοθήκη. Γνωρίζουμε ότι τα κύτταρα ενός πολύπλοκου πολυκύτταρου οργανισμού, όπως τα μυϊκά, τα ηπατικά, διαφέρουν στη μορφή και στη λειτουργία τους, αλλά έχουν όλα το ίδιο γενετικό υλικό. Συνεπώς, από τη στιγμή που χρησιμοποιήθηκαν η ίδια μέθοδος και τα ίδια ένζυμα, οι γονιδιωματικές βιβλιοθήκες των δύο κυττάρων θα είναι ίδιες, δηλαδή θα περιέχουν τους ίδιους βακτηριακούς κλώνους.

Μολονότι όλα τα κύτταρα έχουν τις ίδιες γενετικές οδηγίες, έχουν αναπτύξει μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να εκφράζουν τη γενετική τους πληροφορία επιλεκτικά και να ακολουθούν μόνο τις οδηγίες που χρειάζονται κάθε χρονική στιγμή.

Κάθε κυτταρικός τύπος έχει εξειδικευμένη λειτουργία και πρέπει να υπάρχει πλήρης συντονισμός των λειτουργιών όλων των κυττάρων. Στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς πολλά γονίδια μεταγράφονται σε ορισμένους μόνο κυτταρικούς τύπους, όπως για παράδειγμα τα γονίδια των αλυσίδων των αιμοσφαιρινών που εκφράζονται μόνο στα πρόδρομα ερυθροκύτταρα του ανθρώπου. Αν θέλουμε να κλωνοποιήσουμε μόνο τα γονίδια που εκφράζονται σε συγκεκριμένα κύτταρα, τότε κατασκευάζουμε τις cDNA βιβλιοθήκες. Οι cDNA βιβλιοθήκες περιέχουν αντίγραφα των mRNA όλων των γονιδίων που εκφράζονται στα κύτταρα αυτά και έχουν το πλεονέκτημα απομόνωσης μόνο των αλληλουχιών των γονιδίων που μεταφράζονται σε αμινοξέα, δηλαδή των εξονίων. Επομένως οι cDNA βιβλιοθήκες των δύο κυττάρων θα περιέχουν και κοινούς και διαφορετικούς βακτηριακούς κλώνους και συνεπώς θα διαφέρουν.

## ΘΕΜΑ Γ

**Γ1.** Η διαδικασία η οποία καθορίζει ποια γονίδια θα εκφραστούν, σε ποιους ιστούς (στους πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς) και σε ποια στάδια της ανάπτυξης είναι η μεταγραφή. Η μεταγραφή καταλύεται από ένα ένζυμο, την RNA πολυμεράση, η οποία προσδένεται σε ειδικές περιοχές του DNA, που ονομάζονται υποκινητές, με τη βοήθεια πρωτεϊνών που ονομάζονται μεταγραφικοί παράγοντες. Οι υποκινητές και οι μεταγραφικοί παράγοντες αποτελούν τα ρυθμιστικά στοιχεία της μεταγραφής του DNA και επιτρέπουν στην RNA πολυμεράση να αρχίσει σωστά τη μεταγραφή. Οι υποκινητές βρίσκονται πάντοτε πριν από την αρχή κάθε γονιδίου. Κάθε γονίδιο έχει το δικό του υποκινητή και μεταγράφεται αυτόνομα. Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς οι μεταγραφικοί παράγοντες παρουσιάζουν τεράστια ποικιλία. Κάθε κυτταρικός τύπος περιέχει διαφορετικά είδη μεταγραφικών παραγόντων. Διαφορετικός συνδυασμός μεταγραφικών παραγόντων ρυθμίζει τη μεταγραφή κάθε γονιδίου. Μόνο όταν ο σωστός συνδυασμός των μεταγραφικών παραγόντων προσδεθεί στον υποκινητή ενός γονιδίου, αρχίζει η RNA πολυμεράση τη μεταγραφή ενός γονιδίου.

Με βάση τα παραπάνω, για να μπορέσει το γονίδιο της α1-αντιθρυψίνης να εκφράζεται μόνο στα κύτταρα των μαστικών αδένων θα πρέπει η έκφρασή του να ελέγχεται από έναν υποκινητή πάνω στον οποίο να μπορεί να προσδεθεί ο συνδυασμός των μεταγραφικών παραγόντων που υπάρχει μόνο στα συγκεκριμένα κύτταρα. Επομένως, με τις τεχνικές της Γενετικής Μηχανικής πρέπει να εντοπίζεται, ακριβώς πριν το γονίδιο της α1-αντιθρυψίνης, ένας υποκινητής γονιδίου που εκφράζεται στα κύτταρα των μαστικών αδένων και στη συνέχεια αυτό το τμήμα DNA (υποκινητής - γονίδιο α1-αντιθρυψίνης) με τη διαδικασία της μικροέγχυσης να εισαχθεί στον πυρήνα του ζυγώτου του οργανισμού που θέλουμε να τροποποιηθεί γενετικά.

Επίσης θα πρέπει να αναφέρουμε ότι η διαδικασία ωρίμανσης του πρόδρομου mRNA είναι η ίδια σε όλους τους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, ο γενετικός κώδικας είναι σχεδόν καθολικός και τα ριβοσώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θέση μετάφρασης οποιουδήποτε mRNA.

**Γ2.** Μία από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες που χρησιμοποιείται ευρέως είναι η **EcoRI** που απομονώθηκε από το βακτήριο *Escherichia coli*. Το ένζυμο αυτό όποτε συναντά την αλληλουχία:

5'-GAATTC-3'

3'-CTTAA G-5'

στο γονιδίωμα, κόβει κάθε αλυσίδα μεταξύ του G και του A (με κατεύθυνση 5'→3') αφήνοντας μονόκλωνα άκρα από αζευγάρωτες βάσεις στα κομμένα άκρα. Τα άκρα αυτά μπορούν να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου με τις συμπληρωματικές βάσεις άλλων κομματιών DNA που έχουν κοπεί με το ίδιο ένζυμο.

Επομένως τα άκρα του τμήματος DNA είναι τα ακόλουθα:

5' AATTCCGCAAATTA 3'

3' GGCG TTTAATT 5'

Το συγκεκριμένο τμήμα δεν μπορεί να κλωνοποιηθεί με τη βοήθεια του πλασμιδίου, καθώς δε διαθέτει μονόκλωνα άκρα από αζευγάρωτες βάσεις και στα δύο άκρα. Το ένα άκρο τους είναι δίκλωνο. (Απαιτείται ειδική επεξεργασία προσθήκη μονόκλωνων άκρων για την κλωνοποίησή τους. Εάν επιτελεστεί η επεξεργασία αυτή τότε θα μπορέσει να κλωνοποιηθεί.)

**Γ3.** Τα άτομα με ομάδα αίματος A έχουν στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων τους αντιγόνο τύπου A. Άτομα ομάδας αίματος B έχουν αντιγόνο B. Ένα άτομο ομάδας αίματος AB έχει αντιγόνα A και B, ενώ ένα άτομο ομάδας αίματος 0 δεν έχει κανένα αντιγόνο. Το γονίδιο I, που καθορίζει τις ομάδες αίματος, έχει τρία αλληλόμορφα. Τα  $I^A$  και  $I^B$  κωδικοποιούν τα ένζυμα που σχηματίζουν τα A και B αντιγόνα αντίστοιχα, ενώ το  $i$  δεν κωδικοποιεί κάποιο ένζυμο. Τα  $I^A$  και  $I^B$  είναι συνεπικρατή, ενώ το  $i$  είναι υπολειπόμενο. Άτομα ομάδας A έχουν γονότυπο,  $I^A I^A$  ή  $I^A i$ . Άτομα ομάδας B έχουν γονότυπο  $I^B I^B$  ή  $I^B i$ , ενώ άτομα AB έχουν  $I^A I^B$ . Τα άτομα ομάδας 0 είναι  $ii$ .

Κάθε είδος αντισώματος που αναγνωρίζει έναν αντιγονικό καθοριστή παράγεται από μια ομάδα όμοιων B-λεμφοκυττάρων, που αποτελούν έναν κλώνο. Τα αντισώματα που παράγονται από έναν κλώνο B-λεμφοκυττάρων ονομάζονται μονοκλωνικά. Ένα αντίσωμα αναγνωρίζει μόνο μία περιοχή του αντιγόνου, η οποία ονομάζεται αντιγονικός καθοριστής.

Άρα:

Η  $\Gamma_1$  δε θα έχει κανένα αντιγόνο και θα έχει γονότυπο  $ii$ .

Ο  $\Sigma_1$  θα έχει και το αντιγόνο A και το αντιγόνο B και θα έχει γονότυπο  $I^A I^B$ .

Ο  $\Sigma_2$  έχει το αντιγόνο A και θα έχει γονότυπο  $I^A i$ .

Το παιδί  $\Pi_1$  θα έχει γονότυπο  $ii$  και το  $\Pi_2$  θα έχει  $I^B i$ . Άρα το  $\Pi_1$  θα μπορούσε να είναι παιδί του  $\Sigma_2$  ενώ το  $\Pi_2$  είναι το παιδί του  $\Sigma_1$ .

**Γ4.** Στην καμπύλη παρατηρείται αύξηση της ποσότητας του mRNA ανά βακτήριο που ανιχνεύεται στην καλλιέργεια από τη χρονική στιγμή  $t_1$  που προστίθεται λακτόζη στο θρεπτικό υλικό, μετά την εξάντληση της γλυκόζης.

Το βακτήριο *E. coli* μπορεί να παραγάγει τα τρία απαραίτητα ένζυμα που χρειάζεται για να μεταβολίσει το δισακχαρίτη λακτόζη, όταν δεν υπάρχει γλυκόζη στην τροφή του. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τα τρία αυτά ένζυμα βρίσκονται το ένα δίπλα στο

άλλο πάνω στο γονιδίωμα του βακτηρίου και αποτελούν μια μονάδα, που ονομάζεται **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**.

Τα ρυθμιστικά μόρια στο οπερόνιο είναι 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.

Όταν στο θρεπτικό υλικό υπάρχει μόνο λακτόζη, τότε ο ίδιος ο διασακαχάρτης προσδένεται στον καταστολέα και δεν του επιτρέπει να προσδεθεί στο χειριστή. Τότε η RNA πολυμεράση είναι ελεύθερη να αρχίσει τη μεταγραφή. 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. Τα τρία ένζυμα μεταφράζονται ταυτόχρονα από το ίδιο μόριο mRNA το οποίο περιέχει κωδικόνιο έναρξης και λήξης για κάθε ένζυμο.

Άρα η αύξηση της ποσότητας του mRNA στα βακτήρια της καλλιέργειας οφείλεται στην ενεργοποίηση του οπερονίου της λακτόζης και στην επαγωγή της έκφρασής του, δηλαδή μεταγραφή και επακόλουθη μετάφραση των δομικών γονιδίων.

## ΘΕΜΑ Δ

**Δ1.** Γνωρίζουμε ότι τόσο η κωδική αλυσίδα του DNA όσο και το mRNA, είναι συμπληρωματικά προς τη μεταγραφόμενη αλυσίδα του DNA. Έτσι, η μόνη τους διαφορά είναι ότι όπου στην κωδική αλυσίδα υπάρχει T στο mRNA υπάρχει U. Εφόσον το κωδικόνιο έναρξης του mRNA είναι το AUG με κατεύθυνση 5' AUG 3', το αντίστοιχο κωδικόνιο στην κωδική αλυσίδα του DNA θα είναι το ATG και θα έχει κατεύθυνση 5' ATG 3'. Οι βάσεις ανάμεσα στο κωδικόνιο έναρξης και το κωδικόνιο λήξης θα πρέπει να διαβάζονται ανά τριάδες (κώδικας τριπλέτας), συνεχόμενα χωρίς να παραλείπεται κάποιο νουκλεοτίδιο (συνεχής), καθώς κάθε νουκλεοτίδιο ανήκει σε μία μόνο τριπλέτα (μη επικαλυπτόμενος).

Γνωρίζουμε ότι η διαφορά ανάμεσα στη φυσιολογική αιμοσφαιρίνη και στην αιμοσφαιρίνη HbS εντοπίζεται στο έκτο αμινοξύ της β-πολυπεπτιδικής αλυσίδας, όπου το γλουταμινικό οξύ αντικαθίσταται από βαλίνη. Η αλλαγή στην ακολουθία των αμινοξέων είναι αποτέλεσμα μιας γονιδιακής μετάλλαξης στην τριπλέτα που κωδικοποιεί το γλουταμινικό οξύ. Στην κωδική αλυσίδα του DNA δηλαδή, αλλάζει μία βάση και το φυσιολογικό κωδικόνιο GAG, που κωδικοποιεί το γλουταμινικό οξύ, αντικαθίσταται από το GTG, που κωδικοποιεί τη βαλίνη. Εφόσον η β - αλυσίδα της

HbA υφίσταται μεταμεταφραστική τροποποίηση κατά την οποία απομακρύνεται το πρώτο αμινοξύ από το αρχικό αμινικό άκρο, διαπιστώνουμε ότι στην κωδική αλυσίδα του γονιδίου το 7<sup>ο</sup> κωδινόνιο θα πρέπει να είναι το GAG, ενώ στο μεταλλαγμένο γονίδιο β<sup>s</sup> το 7<sup>ο</sup> κωδινόνιο θα πρέπει να είναι το GTG. Με βάση τα παραπάνω η αλληλουχία III αντιστοιχεί στο φυσιολογικό γονίδιο της β - αλυσίδας της HbA και η αλληλουχία I στο γονίδιο β<sup>s</sup> της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας.

**Δ2.** Παρατηρούμε ότι στην αλληλουχία II, στην κωδική αλυσίδα του γονιδίου έχει πραγματοποιηθεί γονιδιακή μετάλλαξη προσθήκης μίας αζωτούχας βάσης C ανάμεσα στη 2<sup>η</sup> και στην 3<sup>η</sup> βάση του κωδικονίου έναρξης. Έτσι τροποποιείται όλη η φυσιολογική αλληλουχία των κωδικονίων στο γονίδιο και δε γίνεται σωστά η έναρξη της μετάφρασης. Γνωρίζουμε ότι η **β-θαλασσαιμία** χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια, δηλαδή προκαλείται από πολλά διαφορετικά είδη γονιδιακών μεταλλάξεων όπως αντικαταστάσεις, ελλείψεις και προσθήκες βάσεων. Επομένως η αλληλουχία II μπορεί να αντιστοιχεί σε γονίδιο που προκαλεί τη β - θαλασσαιμία.

**Δ3.**

- α) Η θέση έναρξης της διχάλας αντιγραφής βρίσκεται στη θέση Y
- β) Η αλυσίδα A αντιγράφεται συνεχώς και η αλυσίδα B αντιγράφεται ασυνεχώς.
- γ) Το πρωταρχικό τμήμα της ασυνεχούς αλυσίδας που συντίθεται πρώτο είναι το iii το 5' ACGCCA 3'.

**Δ4.** Η β-θαλασσαιμία κληρονομείται με υπολειπόμενο αυτοσωμικό τρόπο.

Έχουμε: **B**: επικρατές φυσιολογικό αλληλόμορφο υπεύθυνο για τη σύνθεση της β πολυπεπτιδικής αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης A,

**β**: υπολειπόμενο αλληλόμορφο, υπεύθυνο για την εκδήλωση της β-θαλασσαιμίας.

Γονότυπος φορέα: **Bβ**

Η δρεπανοκυτταρική αναιμία κληρονομείται με υπολειπόμενο αυτοσωμικό τρόπο.

Έχουμε:

**B**: επικρατές φυσιολογικό αλληλόμορφο υπεύθυνο για τη σύνθεση της β πολυπεπτιδικής αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης A

**β<sup>s</sup>**: υπολειπόμενο αλληλόμορφο, υπεύθυνο για την εκδήλωση της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας.

Γονότυπος φορέα: **Bβ<sup>s</sup>**

Διασταύρωση **Bβ<sup>s</sup> x Bβ**

G: **B, β<sup>s</sup> B, β**

F: **BB, Bβ, Bβ<sup>s</sup>, ββ<sup>s</sup>**