

ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΕΣ ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΥ
2017

ΘΕΜΑ Α

A1. Δ

A2. Δ

A3. Β

A4. Γ

A5. Α

ΘΕΜΑ Β

B1.

A	B	Γ	Δ	E	ΣΤ	Z	H
I	IV	VI	VII	II	III	V	-

B2. Η εικόνα 1 αντιστοιχεί σε προκαρυωτικό κύτταρο. Στην εικόνα φαίνεται ότι πριν ολοκληρωθεί η μεταγραφή έχει αρχίσει η μετάφραση του mRNA. 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. Τα μονοκλωνικά αντισώματα επειδή αναγνωρίζουν ειδικά έναν αντιγονικό καθοριστή, είναι πολύ χρήσιμα ως ανοσοδιαγνωστικά και συνεισφέρουν σημαντικά στην αύξηση της ευαισθησίας κλινικών δοκιμασιών όπως η εξακρίβωση μιας πιθανής κύησης. Στην τελευταία περίπτωση έχουν κατασκευαστεί ειδικά ανοσοδιαγνωστικά τεστ, τα οποία περιέχουν μονοκλωνικά αντισώματα για ειδικές ορμόνες που παράγονται κατά την κύηση. Τα Β-λεμφοκύτταρα, που παράγουν αντισώματα, δεν επιβιώνουν για πολύ έξω από το σώμα και δεν μπορούν να διατηρηθούν σε κυτταροκαλλιέργειες. Την ιδιότητα αυτή την αποκτούν ύστερα από σύντηξη με καρκινικά κύτταρα. Τα υβριδικά κύτταρα που παράγονται ονομάζονται υβριδώματα και μπορούν να παράγουν μεγάλες ποσότητες ενός μονοκλωνικού αντισώματος. Η τεχνική της παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων αναπτύχθηκε το 1975 και ακολουθεί την εξής διαδικασία:

Ένα επιλεγμένο αντιγόνο, στην προκειμένη περίπτωση η 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 μονοκλωνικό αντίσωμα σε μεγάλες ποσότητες.

B4. Τα κύτταρα ενός πολυκύτταρου οργανισμού αν και είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους, διαφέρουν στη δομή και στη λειτουργία τους. Η ζωή αρχίζει, όταν ένα γονιμοποιημένο ωάριο διαιρείται με μίτωση και παράγει τρισεκατομμύρια κύτταρα, που έχουν τα ίδια γονίδια. Στα αρχικά στάδια της εμβρυογένεσης τα κύτταρα εξειδικεύονται, για να εκτελέσουν επιμέρους λειτουργίες και η διαδικασία αυτή ονομάζεται κυτταρική διαφοροποίηση. Τα κύτταρα ενός πολύπλοκου πολυκύτταρου οργανισμού, όπως τα νευρικά, τα μυϊκά, τα ηπατικά, διαφέρουν στη μορφή και στη λειτουργία τους, αλλά έχουν όλα το ίδιο γενετικό υλικό, άρα και τα ίδια γονίδια.

Το σύνολο των βακτηριακών κλώνων που περιέχει το συνολικό DNA του οργανισμού δότη αποτελεί μία γονιδιωματική βιβλιοθήκη.

Το σύνολο των βακτηριακών κλώνων που περιέχουν αντίγραφα των mRNA όλων των γονιδίων που εκφράζονται στα κύτταρα αποτελεί μία cDNA βιβλιοθήκη

Επομένως οι συγκεκριμένες γονιδιωματικές βιβλιοθήκες ηπατικού και μυϊκού κυττάρου που κατά την κατασκευή τους χρησιμοποιήθηκαν η ίδια μέθοδος και τα ίδια ένζυμα θα είναι ίδιες.

Αντίθετα, λόγω κυτταρικής διαφοροποίησης στα δύο κύτταρα εκφράζονται - με κάποιες εξαιρέσεις - διαφορετικά γονίδια άρα θα προκύψουν διαφορετικές cDNA βιβλιοθήκες.

ΘΕΜΑ Γ

Γ1. Ο όρος γονιδιακή έκφραση αναφέρεται συνήθως σε όλη τη διαδικασία με την οποία ένα γονίδιο ενεργοποιείται, για να παραγάγει μια πρωτεΐνη και κυρίως στις πορείες της μεταγραφής και της μετάφρασης των γονιδίων αποτελούν τη γονιδιακή έκφραση.

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. Στο DNA των ευκαρυωτικών κυττάρων κάθε γονίδιο έχει το δικό του υποκινητή και μεταγράφεται αυτόνομα. Μόνο που 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 την μεταγραφή.

Για τη μεταγραφή του γονιδίου της α1-αντιθρυψίνης απαιτείται η πρόσδεση της RNA-πολυμεράσης στον υποκινητή με τη βοήθεια του κατάλληλου συνδυασμού μεταγραφικών παραγόντων, ο οποίος υπάρχει στο συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο, αφού το γονίδιο της α1-αντιθρυψίνης συνδέθηκε μετά τον υποκινητή του γονιδίου της καζεΐνης και πριν τις αλληλουχίες λήξης της μεταγραφής και μάλιστα με τον κατάλληλο προσανατολισμό (δηλαδή με το 3' άκρο της μη κωδικής προς τον υποκινητή).

(Τα διαγονιδιακά ζώα χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων πρωτεϊνών σε μεγάλη ποσότητα αφού οι ανώτεροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί διαθέτουν τους απαραίτητους μηχανισμούς τροποποίησης των πρωτεϊνών που διαθέτουν. Η συλλογή της πρωτεΐνης από το γάλα των ζώων ονομάζεται παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα (gene pharming).

Ο γενετικός κώδικας είναι σχεδόν καθολικός. Όλοι οι οργανισμοί έχουν τον ίδιο γενετικό κώδικα. Τα ριβοσώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θέση μετάφρασης για οποιοδήποτε mRNA.)

Γ2. Μία από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσης που χρησιμοποιείται ευρέως είναι η EcoRI που απομονώθηκε από το βακτήριο *Escherichia coli* (Εικόνα 4.2). Το ένζυμο αυτό όποτε συναντά την αλληλουχία:

5'-G A A T T C-3'

3'-C T T A A 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. Το τμήμα έχει ήδη κοπεί και φέρει το μονόκλωνο άκρο, διατηρώντας τον προσανατολισμό του, άρα έχει άκρα

5' AATTCGCAATTA 3'

3' GGCGTTTAATT 5'

Τα πλασμίδια που χρησιμοποιούνται ως φορείς κλωνοποίησης έχουν τη συγκεκριμένη αλληλουχία μία μόνο φορά. Έτσι τα πλασμίδια κόβονται από την EcoRI σε αυτή τη θέση και δημιουργείται ένα γραμμικό μόριο DNA με 2 μονόκλωνα άκρα. Στο συγκεκριμένο τμήμα δεν υπάρχουν 2 μονόκλωνα άκρα και δεν μπορεί να κλωνοποιηθεί (με τον τρόπο που περιγράφεται στο σχολικό βιβλίο. Θα μπορούσε να κλωνοποιηθεί με κατάλληλη επεξεργασία (π.χ. προσθήκη μονόκλωνου άκρου).

Γ3. Δύο από τα αλληλόμορφα του γονιδίου που καθορίζει τον τύπο των ομάδων αίματος ABO του ανθρώπου είναι συνεπικρατή. 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 O 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 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 είναι *ii*.

Σύμφωνα με τα δεδομένα του πίνακα:

Γ1: *ii* , Σ1: $I^A I^B$, Σ2: $I^A i$, Π1: *ii*, Π2: $I^B i$

Το παιδί Π1 δε φέρει κανένα αντιγόνο οπότε έχει για πατέρα τον Σ2 και κληρονόμησε ένα υπολειπόμενο αλληλόμορφο *i* από κάθε γονέα. Το παιδί Π2 φέρει μόνο το αντιγόνο Β άρα έχει για πατέρα τον Σ1, από τον οποίο κληρονόμησε το αλληλόμορφο I^B και επομένως κληρονόμησε ένα *i* από τη μητέρα.

Θα μπορούσαν να γίνουν και οι ανάλογες διασταυρώσεις αλλά δεν απαιτούνται.

Γ4. Οι Jacob και Monod, το 1961 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. 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. Πώς επιτυγχάνεται η καταστολή; Δύο είναι τα 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.

Όταν στο θρεπτικό υλικό υπάρχει μόνο λακτόζη, τότε ο ίδιος ο δισακχαρίτης 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. Συμπερασματικά, η ίδια η λακτόζη ενεργοποιεί τη διαδικασία για την αποικοδόμησή της. Όταν η λακτόζη διασπαστεί πλήρως, τότε η πρωτεΐνη καταστολέας είναι ελεύθερη να προσδεθεί στο χειριστή και να καταστείλει τη λειτουργία των τριών γονιδίων.

ΘΕΜΑ Δ

Δ1. Η πρώτη γενετική ασθένεια που βρέθηκε ότι είναι αποτέλεσμα συγκεκριμένης γονιδιακής μετάλλαξης ήταν η δρεπανοκυτταρική αναιμία. Το 1949, ο Linus Pauling και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν ότι η αιμοσφαιρίνη των ενηλίκων, HbA, που αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες, δύο α και δύο β, διέφερε στα φυσιολογικά άτομα σε σχέση με εκείνα που έπασχαν από δρεπανοκυτταρική αναιμία. Σήμερα γνωρίζουμε ότι η διαφορά εντοπίζεται **στο έκτο αμινοξύ της β-πολυπεπτιδικής αλυσίδας, όπου το γλουταμινικό οξύ αντικαθίσταται από βαλίνη**. Η μεταλλαγμένη αιμοσφαιρίνη συμβολίζεται ως HbS. 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.**

Αλληλουχία III: φυσιολογικό γονίδιο

Αλληλουχία I : γονίδιο β^s

Η πάνω αλυσίδα είναι η κωδική, φέρει 5'-ATG-3' προς το αριστερό άκρο και έχει 7ο κωδικόνιο το 5'-GTG-3' που κωδικοποιεί βαλίνη (ως 6ο αμινοξύ στην αλυσίδα β^s της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας αφού δίνεται ότι υφίσταται μεταμεταφραστική τροποποίηση κατά την οποία απομακρύνεται το πρώτο αμινοξύ από το αμινικό άκρο) ενώ η αλληλουχία III στην ίδια θέση φέρει το 5'-GAG-3' που κωδικοποιεί το γλουταμινικό οξύ, που αντιστοιχεί στη φυσιολογική β αλυσίδα.

Δ2. Η β-θαλασσαιμία χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια, δηλαδή προκαλείται από πολλά διαφορετικά είδη γονιδιακών μεταλλάξεων όπως αντικαταστάσεις, ελλείψεις και προσθήκες βάσεων. Τα συμπτώματα μπορεί να κυμαίνονται από σοβαρή αναιμία (παντελής έλλειψη πολυπεπτιδικής αλυσίδας β, συνεπώς και HbA) έως λιγότερο σοβαρή αναιμία (ελάττωση σύνθεσης πολυπεπτιδικής αλυσίδας β, συνεπώς σύνθεση HbA σε πολύ μικρή ποσότητα). Η αλληλουχία II της εικόνας 4 που απομένει θα μπορούσε να αντιστοιχεί σε γονίδιο που προκαλεί β-θαλασσαιμία αφού φέρει προσθήκη ζεύγους C-G στο κωδικόνιο έναρξης, μεταξύ 2^{ου} και 3^{ου} νουκλεοτιδίου με αποτέλεσμα την απώλεια του οπότε δεν μπορεί να ξεκινήσει η μετάφραση και δεν παράγεται καθόλου η πολυπεπτιδική αλυσίδα β.

Δ3.

α) Η Θέση Έναρξης της Αντιγραφής βρίσκεται στη Θέση Υ.

β) Η αλυσίδα Α αντιγράφεται συνεχώς. Η αλυσίδα Β αντιγράφεται ασυνεχώς.

γ) Από τα πρωταρχικά τμήματα της ασυνεχούς αλυσίδας πρώτο συντίθεται το

iii) 5' ACGCCA 3'.

Δ4. Η δρεπανοκυτταρική αναιμία και η β-θαλασσαιμία κληρονομούνται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Γενικά, η σύνθεση της β-αλυσίδας της HbA ελέγχεται από αυτοσωμικά πολλαπλά αλληλόμορφα γονίδια.

Έστω: Β: φυσιολογικό αλληλόμορφο για β αλυσίδα

β: υπολειπόμενο αλληλόμορφο για β-θαλασσαιμία

β^s : υπολειπόμενο αλληλόμορφο για δρεπανοκυτταρική αναιμία

$B\beta$ και $B\beta^s$

Οι αυτοσωμικές υπολειπόμενες ασθένειες εκδηλώνονται μόνο στα ομόζυγα άτομα, τα οποία έχουν κληρονομήσει ένα παθολογικό αλληλόμορφο από κάθε γονέα. Οι ετερόζυγοι, έχουν φυσιολογικό φαινότυπο και ονομάζονται φορείς, επειδή μπορούν να μεταβιβάσουν το υπολειπόμενο αλληλόμορφο στους απογόνους. Στην περίπτωση που και οι δύο γονείς είναι φορείς, η πιθανότητα γέννησης παιδιού που πάσχει είναι 25%. Ο φορέας β -θαλασσαιμίας έχει γονότυπο $B\beta$. Ο φορέας δρεπανοκυτταρικής έχει γονότυπο $B\beta^s$.

P: $B\beta \times B\beta^s$ Γαμέτες: B, β, B, β^s

1^{ος} Νόμος Μέντελ: Ο νόμος του διαχωρισμού των αλληλομόρφων γονιδίων. Κατά τη μείωση διαχωρίζονται τα ομόλογα χρωμοσώματα και τα γονίδια που βρίσκονται σ' αυτά και σχηματίζονται οι γαμέτες. Στη γονιμοποίηση γίνεται ελεύθερος συνδυασμός των αλληλομόρφων γονιδίων.

Τετράγωνο του Punnett. Αποτελεί διάγραμμα των γαμετών και του τρόπου συνδυασμού τους σε μια διασταύρωση. Σε κάθε τμήμα του τετραγώνου βρίσκονται οι γονότυποι των ατόμων που προκύπτουν.

	B	β
B	$B B$	$B \beta$
β^s	$B \beta^s$	$\beta \beta^s$

Γονότυποι απογόνων: 1 (BB):1($B\beta$):1($B\beta^s$):1($\beta\beta^s$)

ΚΑΛΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ!