

ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ ΔΙΑΓΩΝΙΣΜΑΤΟΣ

ΖΗΤΗΜΑ 1ο

1. γ 2. β 3. α 4. α 5. γ

ΖΗΤΗΜΑ 2ο

A. A1 με B1 και B2, A2 με B1 και B3

B. Τα γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα για τη διάσπαση της λακτόζης 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. 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.

Γ.

A) Η αλληλουχία των ασυνεχών ή διακεκομένων γονιδίων που μεταφράζεται σε αμινοξέα διακόπτεται από ενδιάμεσες αλληλουχίες οι οποίες δε μεταφράζονται σε αμινοξέα. Οι αλληλουχίες που μεταφράζονται σε αμινοξέα ονομάζονται εξώνια.

B) Οι πορείες της μεταγραφής και της μετάφρασης των γονιδίων αποτελούν τη γονιδιακή έκφραση.

Γ) Αμέσως μόλις το ριβόσωμα έχει μεταφράσει τα πρώτα κωδικόνια, η θέση έναρξης του mRNA είναι ελεύθερη για την πρόσδεση ενός άλλου ριβοσώματος. Το σύμπλεγμα των ριβοσωμάτων με mRNA ονομάζεται πολύσωμα.

Δ) Οι τεχνικές με τις οποίες ο άνθρωπος παρεμβαίνει στο γενετικό υλικό, αποτελούν τη Γενετική Μηχανική.

Δ. Στην Ιατρική (διάγνωση ασθενειών), στην εγκληματολογία (διαλεύκανση υποθέσεων) και στη μελέτη DNA απολιθωμάτων. Πρόκειται για *in vitro* διαδικασία, καθώς πραγματοποιείται χωρίς τη μεσολάβηση ζωντανού οργανισμού και επιτρέπει την επιλεκτική αντιγραφή ενός μορίου DNA, από ένα μίγμα μορίων.

Ζήτημα 3ο

A. Για το πλασμίδιο:

- 1) Να κόβεται σε μία θέση από μια περιοριστική ενδονουκλεάση
- 2) Να διαθέτει τουλάχιστον ένα γονίδιο ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό
- 3) Να διαθέτει Θ.Ε.Α.

Για το βακτηριακό κύτταρο ξενιστή:

- 1) Να μη διαθέτει πλασμίδιο, ώστε να είναι ευαίσθητο σε αντιβιοτικά
- 2) Να μην παράγει περιοριστική ενδονουκλεάση που αναγνωρίζει ειδική αλληλουχία στο φορέα κλωνοποίησης.
- 3) Να έχει μικρό χρόνο διπλασιασμού

B. 1. Οι δύο βιβλιοθήκες θα είναι διαφορετικές, πλην των βακτηριακών κλώνων, που θα περιέχουν κλωνοποιημένα γονίδια που εκφράζονται σε όλους τους κυτταρικούς τύπους. Μία cDNA βιβλιοθήκη, περιλαμβάνει βακτηριακούς κλώνους, με τα αντίγραφα του ολικού ώριμου mRNA ενός συγκεκριμένου κυτταρικού τύπου. Σε κάθε κυτταρικό τύπο όμως, εκφράζονται διαφορετικά γονίδια, λόγω κυτταρικής διαφοροποίησης (επιλεκτική έκφραση γονιδίων).

2. Γονίδια που εκφράζονται σε όλους τους κυτταρικούς τύπους είναι το γονίδιο της RNA πολυμεράσης, των ιστονών, των πρωτεϊνών των ριβοσωμάτων, των πρωτεϊνών των μικρών ριβονουκλεοπρωτεϊνικών σωματιδίων, της DNA πολυμεράσης και των ενζύμων αντιγραφής (σχεδόν σε όλα τα κύτταρα) κλπ.

Γονίδια που εκφράζονται μόνο στα πρόδρομα ερυθροκύτταρα: αιμοσφαιρινών

Γονίδια που εκφράζονται μόνο στα λεμφοκύτταρα: αντισωμάτων

ΕΝ ΔΥΝΑΜΕΙ ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΑ

Γ. Το περιοριστικό ένζυμο EcoRI, αναγνωρίζει και κόβει την ειδική αλληλουχία 5'GAATTC3' και τη συμπληρωματική της, στο δίκλωνο μόριο και κόβει μεταξύ G-A και κατεύθυνση 5'-->3'.

Εάν το μόριο έχει προσανατολισμό



δεν κόβεται καμία φορά από την περιοριστική ενδονουκλεάση.

Εάν το μόριο έχει προσανατολισμό



υπάρχουν δύο θέσεις αναγνώρισης. Συνεπώς θα δράσει δύο φορές και θα σπάσουν 4 φωσφοδιεστερικοί δεσμοί (ΦΔ) συνολικά και 16 δεσμοί υδρογόνου (2 ΦΔ και 8 ΔΥ σε κάθε θέση αναγνώρισης).

Εάν το μόριο είναι κυκλικό θα προκύψουν δύο τμήματα DNA.
Εάν το μόριο είναι γραμμικό θα προκύψουν τρία τμήματα DNA.

Δ. Αλληλουχίες που δεν προκύπτουν από μεταγραφή είναι τα πρωταρχικά τμήματα και το RNA που έχουν ως γενετικό υλικό ορισμένοι ιοί.

Ζήτημα 4ο

1.

α) Θα διαβάσουμε το πεπτίδιο από το αμινικό άκρο προς το καρβοξυλικό άκρο, καθώς οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες έχουν πάντα ελεύθερη στο πρώτο αμινοξύ αμινομάδα και στο τελευταίο καρβοξυλομάδα.

Επίσης, θα διαβάσουμε καθεμιά από τις δύο αλυσίδες του γονιδίου από το 5' προς το 3' ψάχνοντας για την κωδική αλυσίδα με κωδικόνιο έναρξης 5'ATG3', τα κωδικόνια των αμινοξέων

ΕΝ ΔΥΝΑΜΕΙ ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΑ

του πεπτιδίου που δίνεται ΚΑΤΑ ΣΕΙΡΑ (με τη βοήθεια του γενετικού κώδικα και T αντί για U) και τελικά κωδικόνιο λήξης (5'TGA3', 5'TAG3', 5'TAA3'). Όσες βάσεις «περισσεύουν» μεταξύ των κωδικονίων των αμινοξέων θα είναι εσώνια, όσες βάσεις προηγούνται του κωδικονίου έναρξης θα είναι αμετάφραστες, όπως επίσης και όσες ακολουθούν το κωδικόνιο λήξης.

Όποια αλυσίδα του γονιδίου από τις δύο πληροί τις παραπάνω προϋποθέσεις, θα είναι η κωδική αλυσίδα, καθώς αυτή ταυτίζεται σε αλληλουχία βάσεων με το πρόδρομο mRNA με τη διαφορά ότι η ουρακίλη του mRNA γίνεται T στην κωδική αλυσίδα του γονιδίου.

Τελικά κωδική είναι η αλυσίδα που δίνεται στην εκφώνηση. Το πρόδρομο mRNA, που προκύπτει αμέσως μετά τη μεταγραφή είναι:

5'CCGGAUGAAAUUCUAACGCGUGGGGAUGAGAGGAAUCCGG3'

Υπογραμμίζονται το κωδικόνιο έναρξης, η περιοχή του εσωνίου και το κωδικόνιο λήξης.

Ο γενετικός κώδικας είναι κώδικας τριπλέτας, δηλαδή κάθε τριάδα βάσεων αντιστοιχεί σε ένα αμινοξύ και λέγεται κωδικόνιο, είναι συνεχής, δηλαδή το mRNA διαβάζεται συνεχώς ανά τριάδες, δίχως να παραλείπεται κάποιο νουκλεοτίδιο και είναι τέλος μη επικαλυπτόμενος, δηλαδή κάθε νουκλεοτίδιο αντιστοιχεί σε ένα και μόνο κωδικόνιο.

β) 5' AUUAGAUGAAAUUCUGGGGAUGAGAGGAAAA 3'

Διατηρούμε όλες τις περιοχές του πρόδρομου mRNA αφαιρώντας μόνο την αλληλουχία του εσωνίου.

γ) Είναι η περιοριστική ενδονουκλεάση MspI, διότι κόβει πριν το κωδικόνιο έναρξης και μετά το κωδικόνιο λήξης, χωρίς να κόβει στο εσωτερικό του γονιδίου, αφήνοντας δύο μονόκλινα άκρα από αζευγάρωτες βάσεις.

Αντίθετα, η περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI, κόβει στο εσωτερικό του γονιδίου (και μετά το τέλος του) και το καταστρέφει, άρα δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί.

2.

Πλασμίδιο Α με βακτήριο ξενιστή Γ- χρήση πενικιλίνης ή τετρακυκλίνης

Πλασμίδιο Α με βακτήριο ξενιστή Δ - χρήση πενικιλίνης ή τετρακυκλίνης

Πλασμίδιο Α με βακτήριο ξενιστή Ε - χρήση πενικιλίνης

Πλασμίδιο Β με βακτήριο ξενιστή Γ - χρήση καναμυκίνης ή αμπικιλίνης

Πλασμίδιο Β με βακτήριο ξενιστή Δ - χρήση αμπικιλίνης

Πλασμίδιο Β με βακτήριο ξενιστή Ε - χρήση καναμυκίνης ή αμπικιλίνης