

ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ

Ζήτημα 1ο

- 1)α
- 2)γ
- 3)δ
- 4)δ
- 5)γ

Ζήτημα 2ο

A.

1. Για ένα θερμόφιλο βακτήριο, ο **ρυθμός ανάπτυξης**, μεγιστοποιείται στους 60 βαθμούς Κελσίου.
2. Μία ανθρώπινη φαρμακευτική πρωτεΐνη (πρωτεΐνη θεραπείας ασθενειών) κατά τη ζύμωση στη βιομηχανία, θα απομονώνεται **από τα υγρά συστατικά του βιοαντιδραστήρα**, εφόσον εκκρίνεται, κατόπιν φυγοκέντρησης ή διήθησης.
3. Δεδομένου ότι υπάρχουν και προαιρετικά αναερόβιοι μικροοργανισμοί, αυτοί αναπτύσσονται **ταχύτερα απουσία οξυγόνου** και με πιο αργό ρυθμό παρουσία υψηλής συγκέντρωσης οξυγόνου.
4. Στο θρεπτικό υλικό μιας καλλιέργειας μικροοργανισμών, είναι απαραίτητη η ύπαρξη οργανικής ένωσης, ως πηγής άνθρακα, **αν οι μικροοργανισμοί που καλλιεργούνται είναι ετερότροφοι**.
5. Ένα τυπικό παράδειγμα μικροοργανισμού που μπορεί να αναπτυχθεί σε pH 4-5, είναι το βακτήριο **του γένους Lactobacillus**.

B.

Στον πρώτο δοκιμαστικό σωλήνα, προστέθηκε ένζυμο που διασπά τα λιπίδια, συνεπώς θα γίνει μετασχηματισμός ορισμένων ζωντανών αδρών βακτηρίων σε λεία παθογόνα, καθώς το DNA των νεκρών λείων βακτηρίων παραμένει ανέπαφο και το ποντίκι θα πεθάνει.

Στο δεύτερο δοκιμαστικό σωλήνα, προστέθηκε ένζυμο που διασπά πεπτιδικούς δεσμούς πρωτεϊνών, συνεπώς θα γίνει μετασχηματισμός ορισμένων ζωντανών αδρών βακτηρίων σε λεία παθογόνα, καθώς το DNA των νεκρών λείων βακτηρίων παραμένει ανέπαφο και το ποντίκι θα πεθάνει.

Στον τρίτο δοκιμαστικό σωλήνα, προστέθηκε ένζυμο που διασπά 3'-5' φωσφοδιεστερικούς δεσμούς μεταξύ νουκλεοτιδίων DNA, άρα το ένζυμο καταστρέφει το DNA των νεκρών λείων βακτηρίων, δε μετασχηματίζεται κανένα αδρό βακτήριο σε λείο και το ποντίκι επιβιώνει. Το ένζυμο προφανώς είναι κάποια περιοριστική ενδονουκλεάση (π.χ. EcoRI).

Στον τέταρτο δοκιμαστικό σωλήνα, προστέθηκε ένζυμο που διασπά σάκχαρα, συνεπώς θα γίνει μετασχηματισμός ορισμένων ζωντανών αδρών βακτηρίων σε λεία παθογόνα, καθώς το DNA των νεκρών λείων βακτηρίων παραμένει ανέπαφο και το ποντίκι θα πεθάνει.

Στον πέμπτο δοκιμαστικό σωλήνα, προστέθηκε ένζυμο που διασπά 3'-5' φωσφοδιεστερικούς δεσμούς μεταξύ ριβονουκλεοτιδίων, άρα διασπάται μόνο το RNA και όχι το DNA των νεκρών λείων βακτηρίων, οπότε και πάλι θα πεθάνει το πειραματόζωο.

Αναμένεται λοιπόν θάνατος των τεσσάρων από τα πέντε ποντίκια.

Γ. 1. DNA ελικάση: δρα στις θέσεις έναρξης αντιγραφής, σπάζει τους δεσμούς υδρογόνου και δημιουργεί μια θηλιά αντιγραφής, η οποία εξαπλώνεται και προς τις δύο κατευθύνσεις.

2. RNA πολυμεράση: με τη βοήθεια μεταγραφικών παραγόντων, προσδένεται στον υποκινητή ενός γονιδίου (ο υποκινητής βρίσκεται πριν το γονίδιο). Έτσι σπάζει τους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των δύο αλυσίδων του γονιδίου και προκαλεί τοπικό ξετύλιγμα.

Δ.

3. μεταφασικό χρωμόσωμα

6. πυρήνας

8. βακτήριο *Diplococcus pneumoniae*

ΖΗΤΗΜΑ 3^ο

A.

1. Το βακτήριο προτιμά να χρησιμοποιεί τη γλυκόζη και μόλις η γλυκόζη εξαντληθεί, χρησιμοποιεί τη λακτόζη. Συνεπώς τη δεύτερη ώρα της καλλιέργειας, στο θρεπτικό υλικό υπάρχει ακόμη λακτόζη και παράγεται μόνο η πρωτεΐνη καταστολέας από το ρυθμιστικό γονίδιο, καθώς το σπερόνιο βρίσκεται σε καταστολή.

2. Την έβδομη ώρα της καλλιέργειας, έχει εξαντληθεί η γλυκόζη και στο θρεπτικό υλικό υπάρχει μόνο λακτόζη, άρα το σπερόνιο εκφράζεται και τα δομικά γονίδια μεταγράφονται και μεταφράζονται. Συνεπώς παράγεται και το mRNA του ρυθμιστικού γονιδίου και το mRNA των δομικών γονιδίων.

3. Την όγδοη ώρα της καλλιέργειας το σπερόνιο συνεχίζει να μεταγράφεται, γιατί στο θρεπτικό υλικό συνεχίζει να υπάρχει λακτόζη. Άρα ο καταστολέας είναι ανενεργός και είναι συνδεδεμένος με την ίδια τη λακτόζη, η οποία λειτουργεί ως επαγωγέας του σπερονίου.

B. Δεν επιλέγεται η Π.Ε. HindIII, διότι κόβει μέσα στο μοναδικό γονίδιο ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό του πλασμιδίου, επομένως δε θα είναι δυνατή η επιλογή των βακτηρίων που μετασχηματίστηκαν, σε σχέση με τα μη μετασχηματισμένα.

Θα κόψουμε το πλασμίδιο με την EcoRI. Κάποια πλασμίδια θα ανασυνδυαστούν με το ξένο τμήμα DNA, που έχει κοπεί με την EcoRI επίσης, ενώ κάποια άλλα πλασμίδια, θα ξαναγίνουν κυκλικά, παρουσία DNA δεσμάσης, χωρίς να προσλάβουν ξένο DNA.

Ορισμένα βακτήρια δε μετασχηματίζονται. Αυτά είναι ευαίσθητα στο αντιβιοτικό της στρεπτομυκίνης. Τα μετασχηματισμένα βακτήρια είναι δύο ομάδων – αυτά που μετασχηματίζονται με ανασυνδυασμένο πλασμίδιο και αυτά που μετασχηματίζονται με μη ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.

Τα μετασχηματισμένα βακτήρια με μη ανασυνδυασμένο πλασμίδιο, σχηματίζουν μπλε αποικίες, ενώ τα μετασχηματισμένα βακτήρια με ανασυνδυασμένο πλασμίδιο, σχηματίζουν άχρωμες αποικίες, αφού το γονίδιο της μπλε χρωστικής, είναι ανενεργό πλέον. Όλα τα μετασχηματισμένα βακτήρια, είναι ανθεκτικά στη στρεπτομυκίνη.

Θα γίνει προσθήκη στρεπτομυκίνης στην καλλιέργεια, θα θανατωθούν τα μη μετασχηματισμένα βακτήρια. Θα επιλεγούν οι άχρωμες αποικίες ως επιθυμητές, γιατί οι μπλε αποικίες, δε φέρουν το ξένο DNA (φέρουν μη ανασυνδυασμένα πλασμίδια).

Γ.

1. 3'ATGCCCCC5'-3'CCACCCGTT5'
5'TACGGGGG3'-5'GGTGGGCAA3'

2. 3'ATGCCCCC5'-3'AACGGGTGG5'
5'TACGGGGG3'-5'TTGCCCACC3'

3. 3'CCACCCGTT5'-3'ATGCCCCC5'
5'GGTGGGCAA3'-5'TACGGGGG3'

4. 3'CCACCCGTT5'-3'GGGGGCAT5'
5'GGTGGGCAA3'-5'CCCCGTA3'

Με παύλα φαίνονται τα σημεία της ένωσης (φωσφοδιεστερικοί δεσμοί) από το ένζυμο DNA δεσμάση.

Η παραπάνω διαδικασία δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί με χρήση DNA πολυμεράσης, διότι το ένζυμο αυτό έχει την ικανότητα μόνο να επιμηκύνει αλυσίδες με ελεύθερο 3' άκρο, προσθέτοντας συμπληρωματικά δεοξυριβονουκλεοτίδια, απέναντι από τις μητρικές αλυσίδες. Συνεπώς η DNA πολυμεράση συνδέει νουκλεοτίδια μεταξύ τους (κατά την επιμήκυνση μιας αλυσίδας) και όχι τμήματα DNA.

Δ.

- 1) πρωταρχικά τμήματα RNA
- 2) RNA ιών (Γενετικό υλικό)
- 3) RNA ανιχνευτές
- 4) ώριμο μόριο mRNA (προκύπτει από ωρίμανση και όχι από μεταγραφή)

ΖΗΤΗΜΑ 4^ο

A. Για την αιτιολόγηση της απάντησης απαραίτητη είναι η περιγραφή των φάσεων έναρξης και επιμήκυνσης της μετάφρασης, από τις σελίδες του σχολικού βιβλίου 40-41.

Το ριβόσωμα μετακινείται κατά μήκος του mRNA από το 5' άκρο προς το 3' άκρο, άρα η δοθείσα αλληλουχία mRNA θα "διαβαστεί" από δεξιά προς τα αριστερά, σύμφωνα με τις ιδιότητες του γενετικού κώδικα (κώδικας τριπλέτας, συνεχής, μη επικαλυπτόμενος, κωδικόνιο έναρξης και λήξης).

Όταν το ριβόσωμα συναντήσει το κωδικόνιο λήξης, θα έχουν απομακρυνθεί προς το κυτταρόπλασμα τα 4 πρώτα αντικωδικόνια, τα οποία θα είναι κατά σειρά τα

3'UAC5', 3'UCC5', 3'UCU5', 3' CGC5', άρα θα έχουν σπάσει οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ αυτών των αντικωδικονίων και των αντίστοιχων κωδικονίων του μεταφραζόμενου mRNA.

Μεταξύ A-U σχηματίζονται 2 δεσμοί υδρογόνου και μεταξύ C-G σχηματίζονται 3 δεσμοί

υδρογόνου, άρα συνολικά θα έχουν σπάσει 31 δεσμοί υδρογόνου.

Β. Για την αιτιολόγηση της απάντησης είναι απαραίτητη η περιγραφή της φάσης λήξης της μετάφρασης από τη σελίδα 41 του σχολικού βιβλίου.

Από την περιγραφή της παραπάνω φάσης προκύπτει ότι όταν προσδεθεί ο παράγοντας απελευθέρωσης στο ριβόσωμα, απέναντι από το κωδικόνιο λήξης, θα απομακρυνθεί ταυτόχρονα προς το κυτταρόπλασμα το τελευταίο αντικωδικόνιο, δηλαδή το 3' AAA5'. Άρα θα σπάσουν επιπλέον 6 δεσμοί υδρογόνου και έτσι συνολικά θα έχουν σπάσει 37 δεσμοί υδρογόνου.

Γ. Παρατηρούμε ότι τα κωδικόνια του μεταφραζόμενου mRNA είναι 6. Δίνεται ότι το μόριο είναι ώριμο, οπότε περίπτωση εσωνίων στη δοθείσα αλληλουχία δεν υφίσταται. Υπάρχουν δύο πιθανές ερμηνείες ως προς το ερώτημα της εκφώνησης:

α) Το 6ο κωδικόνιο είναι κωδικόνιο λήξης και δεν αντιστοιχεί σε κάποιο αμινοξύ-αυτό συνεπάγεται ότι το αντίστοιχο κωδικόνιο δε μεταφράζεται.

β) Απομένουν 5 κωδικόνια προς μετάφραση, αλλά το τελικό πεπτίδιο αποτελείται από 3 αμινοξέα. Αυτό σημαίνει ότι μετά τη σύνθεσή του, το πεπτίδιο υπόκειται σε μεταμεταφραστική τροποποίηση αφαίρεσης 2 αμινοξέων π.χ αφαίρεση αμινοξέων από το αρχικό αμινικό άκρο.

Δ. Κατασκευάζεται cDNA βιβλιοθήκη.

Απαραίτητα ένζυμα για την κλωνοποίηση του συγκεκριμένου mRNA είναι

αντίστροφη μεταγραφή

DNA πολυμεράση

DNA δεσμάση

περιοριστική ενδονουκλεάση

Ε. Τα κύτταρα του ήπατος, δεν εκφράζουν το συγκεκριμένο πεπτίδιο, τη συγκεκριμένη χρονική στιγμή που έγινε απομόνωση του συνολικού ώριμου mRNA από αυτά, για την κατασκευή της cDNA βιβλιοθήκης.

Επιμέλεια απαντήσεων:

Βασίλειος Ντάνος

Βιολόγος, PhD