

ΘΕΜΑ Α

A1 γ

A2 α

A3 α

A4 δ

A5 γ

ΘΕΜΑ Β

B1. Με τον όρο **ζύμωση** εννοούμε τη διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό κάτω από οποιοσδήποτε συνθήκες. Ο όρος ζύμωση παλαιότερα χρησιμοποιείτο μόνο για αναερόβιες διεργασίες αλλά σήμερα χρησιμοποιείται με την ευρεία έννοια και περιλαμβάνει όλες τις διεργασίες, αερόβιες και αναερόβιες. Τα προϊόντα της ζύμωσης είναι είτε τα ίδια τα κύτταρα που ονομάζονται **βιομάζα** είτε προϊόντα των κυττάρων όπως πρωτεΐνες και αντιβιοτικά.

B2. Ο όρος κλώνος αναφέρεται σε μια ομάδα πανομοιότυπων μορίων, κυττάρων, ή οργανισμών.

A) Μία αποικία είναι ένα σύνολο από μικροοργανισμούς, που έχουν προέλθει από διαδοχικές διαιρέσεις ενός κυττάρου, όταν αυτό αναπτύσσεται σε στερεό θρεπτικό υλικό. Οι αποικίες είναι ορατές με γυμνό οφθαλμό. Επομένως, μία αποικία αποτελεί κλώνο.

B) Τα ομόλογα χρωμοσώματα είναι χρωμοσώματα με ίδια μορφολογία τα οποία ελέγχουν τις ίδιες ιδιότητες με ίδιο ή διαφορετικό τρόπο. Το ένα είναι μητρικής και το άλλο είναι πατρικής προέλευσης. Τα ομόλογα χρωμοσώματα έχουν διαφορετικές αλληλουχίες, επομένως δεν είναι κλώνος.

Γ) Παρόλο που έχουν το ίδιο γονίδιο ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό, τα δύο πλασμίδια είναι απίθανο να έχουν την ίδια αλληλουχία εφόσον προέρχονται από διαφορετικά είδη βακτηρίων. Επομένως, δεν αποτελούν κλώνο.

B3. Ο οργανισμός μας είναι ικανός να παράγει αντισώματα εναντίον κάθε ξένου αντιγόνου. Στην πραγματικότητα, ένα αντίσωμα αναγνωρίζει μόνο μία περιοχή του αντιγόνου, η οποία ονομάζεται **αντιγονικός καθοριστής**. Ένα μεγάλο αντιγόνο, π.χ. ένας μικροοργανισμός, έχει πολλούς αντιγονικούς καθοριστές γι' αυτό παράγονται πολλά είδη αντισωμάτων εναντίον του. Συνεπώς ένα αντίσωμα αναγνωρίζει ένα αντιγόνο μόνο όταν αυτό το αντιγόνο έχει έναν μόνο αντιγονικό καθοριστή.

B4. Είναι η DNA ελικάση και η RNA πολυμεράση

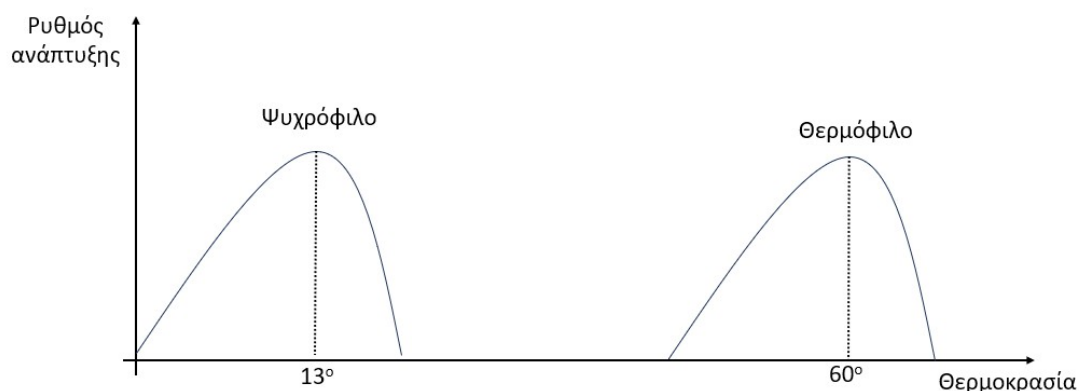
α. Για να αρχίσει η αντιγραφή του DNA, είναι απαραίτητο να ξετυλιχθούν στις θέσεις έναρξης της αντιγραφής οι δύο αλυσίδες. Αυτό επιτυγχάνεται με τη βοήθεια ειδικών ενζύμων, που σπάζουν τους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των δύο αλυσίδων. Τα ένζυμα αυτά ονομάζονται **DNA ελικάσες**. Όταν ανοίξει η διπλή έλικα, δημιουργείται μια «θηλιά», η οποία αυξάνεται και προς τις δύο κατευθύνσεις. Οι θηλιές που δημιουργούνται κατά την έναρξη της αντιγραφής σε ένα μόριο DNA είναι ορατές με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

β. Κατά την έναρξη της μεταγραφής ενός γονιδίου η **RNA πολυμεράση** προσδένεται στον υποκινητή και προκαλεί τοπικό ξετύλιγμα της διπλής έλικας του DNA.

B5. Τα έντομα μπορεί να δημιουργήσουν μεγάλα προβλήματα στη γεωργία και να οδηγήσουν σε σημαντική μείωση της παραγωγής. Μετά το Δεύτερο Παγκόσμιο Πόλεμο χρησιμοποιήθηκαν πολλά εντομοκτόνα. Με την πάροδο των χρόνων όμως έγινε κατανοητό ότι ήταν επικίνδυνα για την υγεία του ανθρώπου και προκαλούσαν μεγάλη οικολογική καταστροφή. Ήταν λοιπόν αναγκαίο να βρεθούν εναλλακτικοί τρόποι αντιμετώπισης του προβλήματος. Το βακτήριο *Bacillus thuringiensis*, που ζει στο έδαφος, παράγει μια ισχυρή **τοξίνη**, η οποία μπορεί να καταστρέψει πολλά είδη εντόμων και σκωλήκων και είναι 80.000 φορές πιο ισχυρή από πολλά εντομοκτόνα. Τα βακτήρια αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την καταπολέμηση των εντόμων. Αρχικά πολλαπλασιάζονται στο εργαστήριο και στη συνέχεια ψεκάζονται στον αγρό. Όμως η τεχνική αυτή είναι αρκετά δαπανηρή, επειδή τα βακτήρια δεν επιβιώνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα και κατά συνέπεια χρειάζονται συνεχείς ψεκασμοί. Για το λόγο αυτό έγιναν προσπάθειες απομόνωσης του γονιδίου του βακτηρίου που παράγει την τοξίνη, και μεταφοράς του στα φυτά. Η μεταφορά στα φυτά έγινε με τη βοήθεια του πλασμιδίου Ti του *Agrobacterium tumefaciens*. Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά θα είναι έτσι ανθεκτικά στα διάφορα έντομα. Το πρώτο φυτό στο οποίο ενσωματώθηκε το γονίδιο της ανθεκτικότητας στα έντομα του *Bacillus thuringiensis* ήταν το καλαμπόκι. (Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά αυτού του τύπου αποτελούν τις ποικιλίες Bt).

ΘΕΜΑ Γ

Γ1. Α.



B. Ένα υγρό θρεπτικό υλικό περιέχει πηγή άνθρακα, πηγή αζώτου και ιόντα διαλυμένα στο νερό. Το στερεό θρεπτικό υλικό έχει όλα τα συστατικά του υγρού θρεπτικού υλικού και επιπλέον έναν πολυσακχαρίτη, που προέρχεται από φύκη, το άγαρ. Το άγαρ είναι ρευστό σε θερμοκρασίες πάνω από 45°C αλλά στερεοποιείται σε μικρότερες θερμοκρασίες.

Ένας θερμόφιλος μικροοργανισμός αναπτύσσεται άριστα σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 45°C, οπότε δε μπορεί να υπάρξει στερεό θρεπτικό υλικό σε αυτές τις συνθήκες και θα χρησιμοποιηθεί υγρό θρεπτικό υλικό. Για τον ψυχρόφιλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε υγρό είτε στερεό θρεπτικό υλικό.

Γ2. Νουκλεοσώματα εντοπίζονται στον πυρήνα των ευκαρυωτικών κυττάρων, όπου το DNA είναι δίκλωνο γραμμικό μόριο. Ένα νουκλεόσωμα αποτελείται από 8 μόρια πρωτεϊνών που ονομάζονται ιστόνες και DNA μήκους 146 ζευγών βάσεων. Συνεπώς για ένα νουκλεόσωμα ισχύει:

$$\text{Νολ} = 146 \times 2 = 292 \text{ νουκλεοτίδια, δηλαδή } A+T+G+C = 292.$$

Οι δύο αλυσίδες ενός δίκλωνου μορίου DNA είναι συμπληρωματικές, δηλαδή η αδενίνη συνδέεται μόνο με θυμίνη και αντίστροφα, ενώ η γουανίνη μόνο με κυτοσίνη και αντίστροφα. Οπότε ισχύει $A=T$ και $G=C$. Με βάση αυτά, η παραπάνω σχέση τροποποιείται ως εξής:

$$2A+2G=292 \quad (1)$$

$$\text{Από την άσκηση δίνεται ότι } G-A=54 \quad (2)$$

Λύνοντας τις σχέσεις (1) και (2) σαν σύστημα προκύπτει: $A=T=46$ και $G=C=100$

Ο 3'-5' φωσφοδιεστερικός δεσμός (φδ) είναι ο ομοιοπολικός δεσμός που συνδέει δύο νουκλεοτίδια μιας πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας. Σχηματίζεται ανάμεσα στο OH του 3'C της πεντόζης του πρώτου νουκλεοτιδίου και της φωσφορικής ομάδας του 5'C της πεντόζης του επόμενου, με αποβολή ενός μορίου νερού.

Αυτό σημαίνει πως αν το μόριο είναι κυκλικό, το πρώτο και το τελευταίο νουκλεοτίδιο κάθε μιας από τις πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες του μορίου ενώνονται, άρα $\phi\delta = \text{Nολ}$.

Αν το μόριο είναι γραμμικό, το πρώτο και το τελευταίο νουκλεοτίδιο κάθε αλυσίδας δεν ενώνονται άρα οι φδ της κάθε αλυσίδας είναι: $N_{\alpha\lambda\upsilon\sigma\iota\delta\alpha\varsigma}-1$. Συνολικά στο μόριο ισχύει: $\phi\delta = \text{Nολ}-2$.

Αφού στα δύο μόρια ισχύει $\phi\delta = \text{Nολ}-2$, τα μόρια είναι δίκλωνα γραμμικά. Είναι γνωστό πως το μιτοχονδριακό DNA είναι κυκλικό δίκλωνο μόριο, με εξαίρεση ορισμένα κατώτερα πρωτόζωα, που ενδέχεται να είναι γραμμικό. Άρα, το κύτταρο προέρχεται από κάποιο κατώτερο πρωτόζωο.

Γ3. α. Ένα πλασμίδιο για να χρησιμοποιηθεί ως φορέας κλωνοποίησης θα πρέπει (Πρέπει να αναφερθούν τρία από τα παρακάτω):

- Να φέρει θέση έναρξης αντιγραφής για να μπορεί να αυτοδιπλασιάζεται ανεξάρτητα σε ένα κύτταρο ξενιστή.
- Να φέρει ένα τουλάχιστον γονίδιο ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό για την επιλογή μετασχηματισμένων βακτηρίων από μη μετασχηματισμένα.
- Να έχει μία αλληλουχία αναγνώρισης για την περιοριστική ενδονουκλεάση που θα χρησιμοποιηθεί. Η αλληλουχία αναγνώρισης της περιοριστικής ενδονουκλεάσης να μη βρίσκεται μέσα στη ΘΕΑ ούτε στο γονίδιο ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό (όταν αυτό είναι μόνο ένα).
- Να μπορεί να εισαχθεί σε βακτήρια ξενιστές με μετασχηματισμό, οπότε πρέπει να διαθέτει γονίδια μεταφοράς γενετικού υλικού.
(Σε περίπτωση που χρειάζεται να εκφραστεί ένα γονίδιο μέσα σε βακτηριακά κύτταρα, πρέπει το πλασμίδιο να διαθέτει έναν υποκινητή, δίπλα στον οποίο θα υπάρχει η αλληλουχία αναγνώρισης της περιοριστικής ενδονουκλεάσης.)

β. Ένα βακτήριο για να χρησιμοποιηθεί ως ξενιστής θα πρέπει (Πρέπει να αναφερθούν τρία από τα παρακάτω):

- Να μη φέρει πλασμίδια, ή αν φέρει, να μην προσδίδουν στο βακτήριο ανθεκτικότητα στο αντιβιοτικό που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για τον διαχωρισμό μετασχηματισμένων από μη μετασχηματισμένα βακτήρια.
(Το δεύτερο σκέλος μπορεί να αναφερθεί και σαν ξεχωριστή απάντηση)

- Να μην παράγει περιοριστικές ενδονουκλεάσες των οποίων οι αλληλουχίες αναγνώρισης υπάρχουν στο πλασμίδιο που θα χρησιμοποιηθεί.
- Να μπορεί να μετασχηματιστεί, δηλαδή να μπορούν γίνουν τα τοιχώματά του παροδικά διαπερατά μετά από ειδική κατεργασία.
- Να έχει μικρό χρόνο διπλασιασμού για να αναπτύσσεται εύκολα σε κυτταροκαλλιέργεια.

ΘΕΜΑ Δ

Δ1. Οι DNA πολυμεράσες λειτουργούν μόνο προς καθορισμένη κατεύθυνση και τοποθετούν τα νουκλεοτίδια στο ελεύθερο 3' άκρο της δεοξυριβόζης του τελευταίου νουκλεοτιδίου κάθε αναπτυσσόμενης αλυσίδας. Έτσι, λέμε ότι αντιγραφή γίνεται με προσανατολισμό 5' προς 3'. Κάθε νεοσυντιθέμενη αλυσίδα θα έχει προσανατολισμό 5'→3'. Έτσι, σε κάθε διπλή έλικα που παράγεται οι δύο αλυσίδες θα είναι αντιπαράλληλες.

Συνεπώς, η αντιγραφή της επάνω αλυσίδας θα ξεκινήσει από τα δεξιά με κατεύθυνση 5'→3', ενώ η αντιγραφή της κάτω αλυσίδας από τα αριστερά με κατεύθυνση 5'→3'.

Διακρίνουμε δύο περιπτώσεις:

1η : Το λάθος γίνεται κατά την αντιγραφή του επάνω κλώνου (το λάθος σημειώνεται με έντονο γράμμα)

5' TAAGTATACTAAACGAATTCATATTAT 3'

3' ATTCATATGATTTGCTTAAGTATAATA 5'

5' TAAGTATACTAAACGAATTCATATTAT 3'

3' ATTCATATGATTTGCTTAAGTATAATA 5'

2η : Το λάθος γίνεται κατά την αντιγραφή του κάτω κλώνου

5' TAAGTATACTAAACGAATTCATATTAT 3'

3' ATTCATATGATTTGCTTAAGTATAATA 5'

5' TAAGTATACTACACGAATTCATATTAT 3'

3' ATTCATATGATTTGCTTAAGTATAATA 5'

Δ2.

5' TAAGTATACTAAACGAATTCATATTAT 3'

←TAATA5'

5' TAAGT3'→

3' ATTCATATGATTTGCTTAAGTATAATA 5'

Δ3. Σε 4 ώρες θα έχουν γίνει $240/30 = 8$ κύκλοι αντιγραφής

Άρα θα έχουν παραχθεί: $2^8 = 256$ μόρια DNA.

Όμως για το ζητούμενο είναι σημαντικό να απεικονιστεί το αποτέλεσμα της δεύτερης αντιγραφής.

5' TAAGTATACTAAACGAATTCATATTAT 3'

3' ATTCATATGATTTGCTTAAGTATAATA 5'

3' ATTCATATGATTTGCTTAAGTATAATA 5'

3' ATTCATATGATTTGCTTAAGTATAATA 5'

5' TAAGTATACTAAACGAATTCATATTAT 3'

3' ATTCATATGATTTGCTTAAGTATAATA 5'

5' TAAGTATACTAAACGAATTCATATTAT 3'

3' ATTCATATGATTTGCTTAAGTATAATA 5'

Απέναντι από το λάθος τοποθετημένο C τοποθετείται πλέον η βάση G.

Τα παραπάνω συνεχίζουν και αντιγράφονται για άλλους 6 κύκλους.

Επομένως, από τα 256 τελικά μόρια, τα 64 θα έχουν 1 ζεύγος βάσεων διαφορετικό από τα υπόλοιπα 192.

Ο όρος **κλώνος** αναφέρεται σε μια ομάδα πανομοιότυπων μορίων, κυττάρων, ή οργανισμών.

Επομένως, έχουμε δύο ομάδες πανομοιότυπων μορίων DNA, άρα έχουμε 2 κλώνους.

Τα ίδια ισχύουν και για τη δεύτερη περίπτωση

Δ4. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες αναγνωρίζουν ειδικές αλληλουχίες 4-8 νουκλεοτιδίων στο δίκλωνο DNA. Μία από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες που χρησιμοποιείται ευρέως είναι η **EcoRI** που

απομονώθηκε από το βακτήριο *Escherichia coli* (Εικόνα 4.2). Το ένζυμο αυτό όποτε συναντά την αλληλουχία: 5'-GAATTC-3' και τη συμπληρωματική της στο γονιδίωμα, κόβει κάθε αλυσίδα μεταξύ του G και του A (με κατεύθυνση 5'→3') αφήνοντας μονόκλωνα άκρα από αζευγάρωτες βάσεις στα κομμένα άκρα.

Θα εξετάσουμε τις δύο περιπτώσεις ξεχωριστά:

1η :

5' TAAGTATACTAAACGAATTCATATTAT 3'

3' ATTCATATGATTTGCCTAAGTATAATA 5'

5' TAAGTATACTAAAC**GAATTC**ATATTAT 3'

3' ATTCATATGATTTG**CTTAAG**TATAATA 5'

Στο πρώτο μόριο δεν υπάρχει αλληλουχία αναγνώρισης, ενώ στο δεύτερο υπάρχει. Άρα, τρία τμήματα.

2η :

5' TAAGTATACTAAAC**GAATTC**ATATTAT 3'

3' ATTCATATGATTTG**CTTAAG**TATAATA 5'

5' TAAGTATACTACAC**GAATTC**ATATTAT 3'

3' ATTCATATGATTTG**CTTAAG**TATAATA 5'

Και στα δύο τμήματα υπάρχει η αλληλουχία αναγνώρισης, συνεπώς προκύπτουν 4 μόρια DNA.