

Διαγώνισμα Βιολογίας Γ' Λυκείου – Θερινή Περίοδος
Λύσεις

ΘΕΜΑ Α

A1. γ

A2. γ

A3. α

A4. γ

A5. δ

ΘΕΜΑ Β

B1.

Περιοχή DNA	Γονιδιωματική Βιβλιοθήκη	cDNA βιβλιοθήκη
Υποκινητής	ΝΑΙ	ΟΧΙ
5' αμετάφραστη περιοχή	ΝΑΙ	ΝΑΙ
Εσώνια	ΝΑΙ	ΟΧΙ
Αλληλουχίες λήξης μεταγραφής	ΝΑΙ	ΟΧΙ
Κωδικόνια	ΝΑΙ	ΝΑΙ

B2.

α. **Ασυνεχή γονίδια:** Λέγονται αλλιώς και διακεκομμένα και είναι η αλληλουχία που μεταφράζεται σε αμινοξέα και διακόπτεται από ενδιάμεσες αλληλουχίες, οι οποίες δε μεταφράζονται σε αμινοξέα. Οι αλληλουχίες που μεταφράζονται σε αμινοξέα ονομάζονται εξώνια και οι ενδιάμεσες αλληλουχίες ονομάζονται εσώνια. Συναντώνται στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς και στους ιούς που τους προσβάλλουν, αφού το mRNA που παράγεται κατά τη μεταγραφή ενός γονιδίου συνήθως δεν είναι έτοιμο να μεταφραστεί, αλλά υφίσταται μία πολύπλοκη διαδικασία ωρίμανσης.

β. **Οπερόνιο:** Το οπερόνιο είναι ομάδα γονιδίων που υπόκεινται σε κοινό έλεγχο της έκφρασής τους. Είναι ένας τρόπος οργάνωσης γονιδίων που είναι απαραίτητο να λειτουργούν σε συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες. Συναντώνται αποκλειστικά στους προκαρυωτικούς οργανισμούς, στους οποίους τα γονίδια που παίρνουν μέρος σε μια μεταβολική οδό, όπως η διάσπαση της λακτόζης ή η βιοσύνθεση διάφορων αμινοξέων, οργανώνονται σε οπερόνια. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το οπερόνιο της λακτόζης.

γ. **Ανασυνδυασμένο DNA:** Είναι ένα τεχνητό μόριο DNA, που περιέχει γονίδια από δύο ή και περισσότερους οργανισμούς. Το DNA αυτό μπορεί να μπει σε ένα βακτήριο ή σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο.

B3.

α.

- 1) Να διαθέτει αλληλουχία αναγνώρισης περιοριστικής ενδονουκλεάσης μόνο μία φορά
- 2) Να έχει γονίδιο ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό
- 3) Να έχει θέση έναρξης της αντιγραφής
- 4) Να διαθέτει γονίδια μεταφοράς γενετικού υλικού

β.

- 1) Να μπορεί να αναπτύσσεται εύκολα και γρήγορα στο εργαστήριο
- 2) Να μην διαθέτει άλλο πλασμίδιο, ή αν διαθέτει, να μην έχει γονίδια ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί
- 3) Να έχει δυνατότητα μετασχηματισμού
- 4) Να μη παράγει την περιοριστική ενδονουκλεάση που χρησιμοποιήθηκε για τη δημιουργία ανασυνδυασμένου DNA, καθώς θα κόψει εκ νέου το ανασυνδυασμένο μόριο και θα το καταστρέψει.

B4.

α.

- 1) Τα ριβοσώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θέσεις μετάφρασης για οποιοδήποτε mRNA. Επιπλέον, το mRNA των πρόδρομων ερυθρών αιμοσφαιρίων που απομονώθηκε είναι ώριμο, άρα δεν περιλαμβάνει εσώνια. Συνεπώς, το mRNA αυτό μεταγράφεται και μεταφράζεται από τα βακτήρια και παράγεται τελικά η πολυπεπτιδική αλυσίδα β της αιμοσφαιρίνης Α.
- 2) Ο γενετικός κώδικας είναι σχεδόν καθολικός δηλαδή όλοι οι οργανισμοί έχουν τον ίδιο γενετικό κώδικα. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι το mRNA από οποιονδήποτε οργανισμό μπορεί να μεταφραστεί σε εκχυλίσματα φυτικών, ζωικών ή βακτηριακών κυττάρων in vitro και να παραγάγει την ίδια πρωτεΐνη.

β. Τα βακτήρια δεν διαθέτουν τους μηχανισμούς μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων που υπάρχουν στα ευκαρυωτικά κύτταρα. Επομένως, πολλές πρωτεΐνες ευκαρυωτών που συντίθενται σε βακτήρια δεν μπορούν να αποκτήσουν τη σωστή τρισδιάστατη δομή, η οποία είναι απαραίτητη για τη βιολογική τους λειτουργία. Συνεπώς, ακόμη και αν πραγματοποιηθεί η πρωτεϊνοσύνθεση και παραχθεί η επιθυμητή πρωτεΐνη, αυτή δεν θα είναι βιολογικά λειτουργική πριν υποστεί τις απαραίτητες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις.

Επιπλέον, η λειτουργική μορφή της αιμοσφαιρίνης Α αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες: δύο α-αλυσίδες και δύο β-αλυσίδες.

B5. Ο ανιχνευτής μήκους 30 νουκλεοτιδίων παρουσιάζει μεγαλύτερη ειδικότητα, καθώς είναι πολύ λιγότερο πιθανό να υπάρχει στο γονιδίωμα άλλη αλληλουχία

πλήρως συμπληρωματική και αντιπαράλληλη προς αυτόν. Αντίθετα, ένας ανιχνευτής μήκους μόλις 8 νουκλεοτιδίων είναι πιθανότερο να συναντήσει περισσότερες από μία συμπληρωματικές και αντιπαράλληλες αλληλουχίες στο γονιδίωμα, με αποτέλεσμα να υβριδοποιείται και σε μη επιθυμητές θέσεις, προκαλώντας μη ειδικά αποτελέσματα. Συνεπώς, ο ανιχνευτής μήκους 30 νουκλεοτιδίων είναι πιο ειδικός και, επομένως, καταλληλότερος για τεχνικές υβριδοποίησης.

ΘΕΜΑ Γ

Γ1. Σε κάθε περίπτωση πρέπει να χρησιμοποιηθεί πλασμίδιο που δεν έχει γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά στα οποία είναι ήδη ανθεκτικό το βακτήριο ξενιστής.

Με αυτή τη λογική, ισχύει:

Βακτήριο Α με το πλασμίδιο 2

Βακτήριο Β με πλασμίδια 1, 3 και 4

Βακτήριο Γ με πλασμίδια 3 (με τη χρήση του αντιβιοτικού στρεπτομυκίνη) και 4.

Γ2. Το ευκαρυωτικό μόριο DNA ενδέχεται να είναι γραμμικό, αν προέρχεται από πυρήνα, ή κυκλικό, αν προέρχεται από μιτοχόνδριο ή χλωροπλάστη.

1^η περίπτωση: γραμμικό μόριο: Αν μια περιοριστική ενδονουκλεάση συναντά x φορές την αλληλουχία αναγνώρισης σε ένα μόριο DNA, τότε, αν αυτό είναι γραμμικό, προκύπτουν $x+1$ θραύσματα, από τα οποία τα δύο θραύσματα που βρίσκονται στα άκρα του μορίου έχουν μόνο ένα μονόκλωνο άκρο, άρα δε μπορούν να ενσωματωθούν σε πλασμίδια-φορείς αν δεν γίνει επεξεργασία προσθήκης μονόκλωνων άκρων. Άρα κατάλληλα να ενσωματωθούν χωρίς περεταίρω επεξεργασία είναι $(x+1)-2=x-1$.

Στην περίπτωσή μας, αφού το μόριο κόβεται 7 φορές, προκύπτουν 8 θραύσματα, από τα οποία τα 6 είναι κατάλληλα να ενσωματωθούν σε πλασμίδια χωρίς επεξεργασία.

2^η περίπτωση: κυκλικό μόριο: Αν η περιοριστική ενδονουκλεάση κόψει ένα κυκλικό μόριο δίκλωνου DNA x φορές, προκύπτουν x θραύσματα, τα οποία είναι όλα κατάλληλα να ενσωματωθούν σε πλασμίδια φορείς χωρίς επεξεργασία, καθώς όλα διαθέτουν μονόκλινα άκρα και στις δύο πλευρές τους.

Άρα, σε αυτή την περίπτωση προκύπτουν 7 θραύσματα που είναι όλα κατάλληλα να ενσωματωθούν σε πλασμίδια άμεσα.

Γ3. Σωστή απάντηση είναι το β.

Αν στο δίκλωνο DNA $A_{ολ}+T_{ολ}=40\%$, αυτό σημαίνει ότι $A_{ολ}=T_{ολ}=20\%$.

Οπότε το ποσοστό $G_{ολ}+C_{ολ}=60\%$ στο δίκλωνο DNA, άρα $G_{ολ}=C_{ολ}=30\%$.

Το RNA που θα παραχθεί είναι συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο με τη μη κωδική αλυσίδα, άρα έχει ίδια αλληλουχία με την κωδική, οπότε το ποσοστό των βάσεων του RNA είναι το ποσοστό της κωδικής αλυσίδας.

Έστω Αλυσίδα 1: η κωδική και Αλυσίδα 2: η μη κωδική.

Λόγω συμπληρωματικότητας ισχύει: $A_1=T_2$, $T_1=A_2$, $G_1=C_2$, $C_1=G_2$.

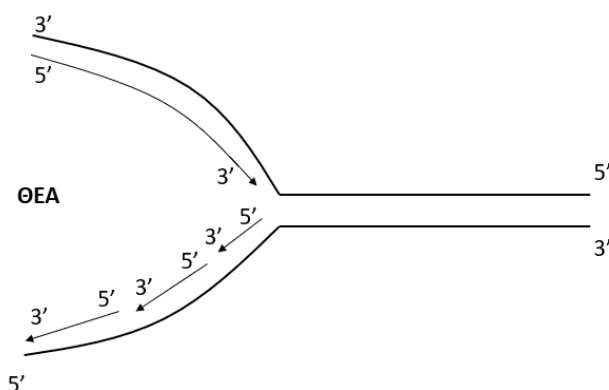
$G_1+C_1= G_1+G_2=G_{ολ}=30\%$, άρα η γουανίνη και η κυτοσίνη στην κωδική αλυσίδα αποτελούν το 30% ολόκληρου του μορίου DNA. Αφού χρειαζόμαστε το ποσοστό στη μονόκλωνη αλυσίδα, θα είναι $30 \times 2 = 60\%$

Το οποίο σημαίνει πως το ποσοστό G+C στο RNA θα είναι επίσης 60%.

Γ4.

ΘΕΑ CCCTTAAGCCCATGACACAGTGGTGAATTCCCACACGCGCCTGTAAACACGCTTAAGAC
 GGGAATTCGGGTACTGTGTCAACCTTAAGGGTCTGCGCGGACATTTGTGCGAATTCTG

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. Για να ακολουθηθεί αυτός ο κανόνας σε κάθε τμήμα DNA που γίνεται η αντιγραφή, η σύνθεση του DNA είναι συνεχής στη μια αλυσίδα και ασυνεχής στην άλλη. Η μη κωδική αλυσίδα, δηλαδή η κάτω, αντιγράφεται ασυνεχώς και δεδομένου ότι η ΘΕΑ βρίσκεται στα αριστερά, οι προσανατολισμοί θα πρέπει να είναι ως εξής:



Μη κωδική αλυσίδα ονομάζεται η μεταγραφόμενη, δηλαδή αυτή που είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη με το RNA που παράγεται. Η άλλη αλυσίδα του γονιδίου, η οποία δε μεταγράφεται, ονομάζεται κωδική, είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη της μη κωδικής, άρα ίδια σε αλληλουχία και προσανατολισμό με το RNA, μόνο που έχει T αντί για U. Ο όρος κωδικόνιο αφορά τόσο το mRNA, όσο και την κωδική αλυσίδα του γονιδίου από το οποίο παράγεται. Στην κωδική αλυσίδα, εντοπίζεται με κατεύθυνση 5' προς 3' κωδικόνιο έναρξης, 5'ATG3' και προχωρώντας με βήμα τριπλέτας, συνεχώς και μη επικαλυπτόμενα, καταλήγει σε κωδικόνιο λήξης 5'TGA3', ως εξής:

ΚΛ	ΚΕ
3' CCCTTAAGCCCATGACAC- AGT -GGT-GAA-TTC-CCA-CAC-GCG-CCT- GTA -AACACGCTTAAGAC 5'	
5' GGGAAATTCGGGTACTGTG-TCA-CCA-CTT-AAG-GGT-CTG-CGC-GGA-CAT-TTGTGCGAATTC 3'	

Η αλληλουχία που αναγνωρίζει η EcoRI είναι:

5'GAATTC3'

3'CTTAAG5'

και κόβει κάθε αλυσίδα μεταξύ G-A με κατεύθυνση 5' προς 3'. Στο παραπάνω μόριο, δίνονται με υπογράμμιση οι αλληλουχίες αναγνώρισης της EcoRI. Οι αλληλουχίες αυτές εντοπίζονται δεξιά και αριστερά του γονιδίου αλλά όχι μέσα σε αυτό, επομένως το γονίδιο μπορεί να κλωνοποιηθεί με τη χρήση αυτής της περιοριστικής ενδονουκλεάσης.

ΘΕΜΑ Δ

Δ1.

Κατά την έναρξη της μετάφρασης το mRNA προσδένεται, μέσω μιας αλληλουχίας που υπάρχει στην 5' αμετάφραστη περιοχή του, με το ριβοσωμικό RNA της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος, σύμφωνα με τους κανόνες της συμπληρωματικότητας των βάσεων. Το πρώτο κωδικόνιο του mRNA είναι πάντοτε 5'-AUG-3' και σ' αυτό προσδένεται το tRNA που φέρει το αμινοξύ μεθειονίνη και το αντικωδικόνιο 3'-TAC-5'. Ως μη κωδικός ή μεταγραφόμενος κλώνος του DNA ονομάζεται ο κλώνος που χρησιμοποιείται ως εκμαγείο για τη σύνθεση του mRNA οπότε είναι συμπληρωματικός και αντιπαράλληλος με αυτόν. Με βάση τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι η αμετάφραστη περιοχή που δίνεται θα αντιστοιχεί στην 5'-αμετάφραστη περιοχή του mRNA και κατά συνέπεια θα μεταγράφεται από το 3' άκρο του μη κωδικού κλώνου. Επιπλέον, μετά την αμετάφραστη περιοχή, θα πρέπει να ακολουθεί στον μεταγραφόμενο κλώνο τη τριπλέτα 3'-TAC-5', η οποία θα μεταγραφεί στο πρώτο κωδικόνιο του mRNA 5'-AUG-3', που κωδικοποιεί το αμινοξύ μεθειονίνη. Έτσι, συμπεραίνουμε ότι η μεταγραφόμενη, μη κωδική αλυσίδα του συγκεκριμένου γονιδίου θα είναι η Αλυσίδα Β, η οποία φέρει την εν λόγω τριπλέτα αμέσως μετά την αμετάφραστη περιοχή που απεικονίζεται στην αγκύλη. Έτσι, η κωδική αλυσίδα του γονιδίου (της οποίας κινητό αντίγραφο θα είναι και το mRNA με μόνη διαφορά ότι θα

περιέχει τη βάση ουρακίλη U αντί για θυμίνη T) θα είναι η συμπληρωματική της μεταγραφόμενης, δηλαδή η αλυσίδα A. Δεδομένου ότι η αμετάφραστη περιοχή που προσδένεται στη μικρή υπομονάδα του ριβοσώματος όπως προαναφέρθηκε θα πρέπει να βρίσκεται στο 5' άκρο του mRNA και συνεπώς στο 3' άκρο της μη κωδικής και το 5' άκρο της κωδικής αλυσίδας (αφού η μη κωδική είναι αντιπαράλληλη του mRNA και της κωδικής), οι προσανατολισμοί θα έχουν ως εξής:

Σημείο I: 5' άκρο

Σημείο II: 3' άκρο

Σημείο III: 3' άκρο

Σημείο IV: 5' άκρο

Δ2.

A. Τα εσώνια αποτελούν παρεμβαλλόμενες, μη κωδικές αλληλουχίες των γονιδίων, τα οποία αφαιρούνται από το πρόδρομο mRNA με τη διαδικασία της ωρίμανσης, πριν το mRNA εγκαταλείψει τον πυρήνα και εξέλθει στο κυτταρόπλασμα για να μεταφραστεί. Με βάση την αλληλουχία των αντικωδικονίων του tRNA, τα οποία είναι συμπληρωματικά και αντιπαράλληλα με τα κωδικόνια του mRNA, και δεδομένου ότι δεν υπάρχει tRNA που να αντιστοιχεί στο κωδικόνιο λήξης, καθώς αυτό δεν κωδικοποιεί αμινοξύ, συμπεραίνουμε ότι η αλληλουχία του εσωνίου που υπάρχει στο παραπάνω γονίδιο θα είναι η:

5'- AATCATA-3'

3'- TTAGTAT-5'

(την οποία συναντούμε στο 6ο ζεύγος βάσεων μετά το τέλος της αμετάφραστης περιοχής).

B. Το ώριμο mRNA περιλαμβάνει τα εξώνια και τις αμετάφραστες περιοχές, αλλά **όχι το εσώνιο**:

mRNA: 5'-[ACAGU...]AUGUGGUUCCUAUGUGGGUUUAAGCAU-3'

Το cDNA συντίθεται από την αντίστροφη μεταγραφάση, είναι συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο προς το ώριμο mRNA. Επομένως αποτελεί αντίγραφο της κάτω αλυσίδας B, χωρίς το εσώνιο:

cDNA: 5'-ATGCTTAAACCCACATAGGAAACCACAT...TGACA-3'

Στο cDNA περιλαμβάνονται και οι αμετάφραστες περιοχές, επειδή αυτές υπάρχουν στο ώριμο mRNA. Δεν περιλαμβάνεται το εσώνιο, επειδή έχει απομακρυνθεί κατά την ωρίμανση του πρόδρομου mRNA.

Δ3. Forward primer: 5'-ACAGT-3'

Reverse primer: 5'-ATGCT-3'

Δ4. Το rRNA είναι συστατικό της μικρής ριβοσωματικής υπομονάδας, η οποία προσδένεται στην 5' αμετάφραστη περιοχή του mRNA ώστε να δημιουργηθεί με τη βοήθεια του πρώτου t-RNA που μεταφέρει τη μεθειονίνη το σύμπλοκο έναρξης της μετάφρασης. Κατά συνέπεια, το rRNA θα πρέπει να είναι συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο της 5' αμετάφραστης περιοχής του mRNA ώστε να προσδένεται πάνω της με βάση τους κανόνες της συμπληρωματικότητας. Έτσι, αφού η 5'-αμετάφραστη περιοχή του mRNA που δίνεται έχει αλληλουχία: 5'-ACAGU-3' Η αντίστοιχη συμπληρωματική αλληλουχία του rRNA θα είναι: 3'-UGUCA-5'. Δεδομένου ότι η αλληλουχία του rRNA θα είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη με τη μεταγραφόμενη αλυσίδα του γονιδίου της Εικόνας 3, συμπεραίνουμε ότι η μεταγραφόμενη αλυσίδα θα είναι η αλυσίδα Γ, και ο προσανατολισμός της θα είναι: 5'-ACAGT-3'