

ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΕΝΝΟΙΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ Γ ΛΥΚΕΙΟΥ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ

Κεφάλαιο Πρώτο
Το γενετικό υλικό

Με βάση ποιο πείραμα αποδείχθηκε ότι
το DNA είναι το γενετικό υλικό;

Το 1928 ο **Griffith** χρησιμοποίησε δύο στελέχη του βακτηρίου πνευμονιόκοκκος (**Diplococcus pneumoniae**), τα οποία ξεχωρίζουν μορφολογικά, όταν καλλιεργηθούν σε θρεπτικό υλικό, λόγω της παρουσίας ή μη ενός προστατευτικού καλύμματος. Το στέλεχος που είχε κάλυμμα σχημάτιζε λείες αποικίες και ήταν παθογόνο, δηλαδή σκότωνε τα ποντίκια που μόλυνε, ενώ εκείνο που δεν είχε κάλυμμα, σχημάτιζε αδρές αποικίες και δεν ήταν παθογόνο.

Ο **Griffith** χρησιμοποίησε υψηλή θερμοκρασία, για να σκοτώσει τα λεία βακτήρια και με αυτά μόλυνε ποντικούς, οι οποίοι παρέμεναν ζωντανοί. Όταν όμως ανέμειξε νεκρά λεία βακτήρια με ζωντανά αδρά και με το μείγμα μόλυνε ποντικούς, τότε αυτοί πέθαναν. Στο αίμα των νεκρών ποντικών βρέθηκαν ζωντανά λεία βακτήρια. Ο **Griffith** συμπέρανε ότι μερικά αδρά βακτήρια «μετασχηματίστηκαν» σε λεία παθογόνα ύστερα από αλληλεπίδραση με τα νεκρά λεία βακτήρια, αλλά δεν μπόρεσε να δώσει ικανοποιητική απάντηση για το πώς γίνεται αυτό.

1928 πείραμα του Griffith

Ζωντανά λεία βακτήρια (με κάλυμμα) παθογόνο	Ποντικός (Θ)	
Ζωντανά αδρά βακτήρια (χωρίς κάλυμμα) δεν είναι παθογόνο	Ποντικός (Ε)	
Νεκρά λεία βακτήρια (Θέρμανση)	Ποντικός (Ε)	
Ζωντανά αδρά βακτήρια	Νεκρά λεία βακτήρια	Ποντικός (Θ)

Η απάντηση δόθηκε το 1944, όταν οι Avery, Mac-leod, και McCarty επανέλαβαν τα πειράματα του **Griffith** in vitro. Οι ερευνητές διαχώρισαν τα συστατικά των νεκρών λείων βακτηρίων σε υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, λιπίδια, RNA, DNA κτλ. και έλεγξαν ποιο από αυτά είχε την ικανότητα μετασχηματισμού. Διαπίστωσαν ότι το συστατικό που προκαλούσε το μετασχηματισμό των αδρών βακτηρίων σε λεία ήταν το DNA. Την ίδια εποχή υπήρχαν πολλά βιοχημικά δεδομένα που υποστήριζαν ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό.

- Η ποσότητα του DNA σε κάθε οργανισμό είναι σταθερή και δε μεταβάλλεται από αλλαγές στο περιβάλλον. Η ποσότητα του DNA είναι επίσης ίδια σε όλα τα είδη κυττάρων ενός οργανισμού όπως στην περίπτωση του ανθρώπου σε αυτά του σπλήνα, της καρδιάς, του ήπατος κτλ.

- Οι γαμέτες των ανώτερων οργανισμών, που είναι απλοειδείς, περιέχουν τη μισή ποσότητα DNA από τα σωματικά κύτταρα, που είναι διπλοειδή.
- Η ποσότητα του DNA είναι, κατά κανόνα, ανάλογη με την πολυπλοκότητα του οργανισμού. Συνήθως, όσο εξελικτικά ανώτερος είναι ο οργανισμός τόσο περισσότερο DNA Περιέχει σε κάθε κύτταρό του.



Πότε ήρθε η οριστική επιβεβαίωση ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό;



Η οριστική επιβεβαίωση ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό ήλθε το 1952 με τα κλασικά πειράματα των **Hershey και Chase** οι οποίοι μελέτησαν τον κύκλο ζωής του βακτηριοφάγου T₂. Οι ερευνητές ιχνηθέτησαν τους φάγους με ραδιενεργό ³⁵S, που ανιχνεύει τις πρωτεΐνες αλλά όχι το DNA, και με ραδιενεργό ³²P, που ενσωματώνεται μόνο στο DNA αλλά όχι στις πρωτεΐνες. Στη συνέχεια με ραδιενεργούς φάγους μόλυναν βακτήρια. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μόνο το DNA των φάγων εισέρχεται στα βακτηριακά κύτταρα και είναι ικανό να «δώσει τις απαραίτητες εντολές», για να πολλαπλασιαστούν και να παραχθούν οι νέοι φάγοι.

Επεξήγηση εννοιών και όρων:

Αποικία: είναι ένα σύνολο από μικροοργανισμούς που έχουν προέλθει από διαδοχικές διαιρέσεις ενός κυττάρου όταν αυτό αναπτύσσεται σε στερεό θρεπτικό υλικό και είναι ορατές με γυμνό οφθαλμό.

Απλοειδή: Τα κύτταρα στα οποία το γονιδίωμα υπάρχει σε ένα μόνο αντίγραφο.

Διπλοειδή: Τα κύτταρα στα οποία το γονιδίωμα υπάρχει σε δύο αντίγραφα.

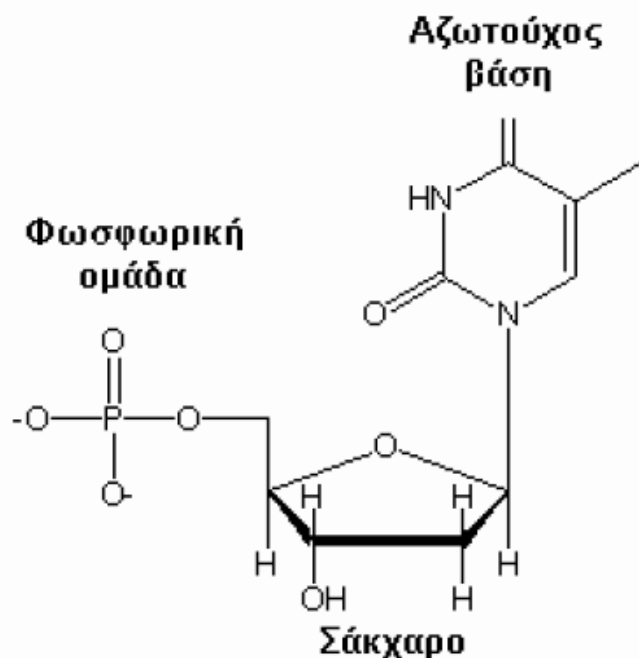
In vivo: Έκφραση που χρησιμοποιείται για την περιγραφή βιολογικής διαδικασίας, όταν αυτή πραγματοποιείται μέσα σε ζωντανό οργανισμό

In vitro: Έκφραση που χρησιμοποιείται για την περιγραφή βιολογικής διαδικασίας, όταν αυτή πραγματοποιείται στο δοκιμαστικό σωλήνα

Ποια είναι η δομή του DNA;



Το DNA, όπως και το RNA, είναι ένα μακρομόριο, που αποτελείται από **νουκλεοτίδια**. Κάθε νουκλεοτίδιο του DNA αποτελείται από μία πεντόζη, τη δεοξυριβόζη, ενωμένη με μια φωσφορική ομάδα και μια αζωτούχο βάση. Στα νουκλεοτίδια του DNA η αζωτούχος βάση μπορεί να είναι μια από τις: αδενίνη (A), γουανίνη (G), κυτοσίνη (C) και θυμίνη (T).



Τα νουκλεοτίδια προέρχονται από τη σύνδεση με ομοιοπολικό δεσμό, τριών διαφορετικών μορίων.

Μιας πεντόζης (σάκχαρο με πέντε άτομα άνθρακα)

Μιας οργανικής αζωτούχου βάσης

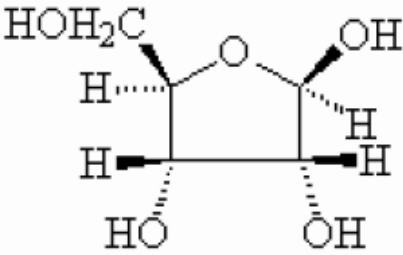
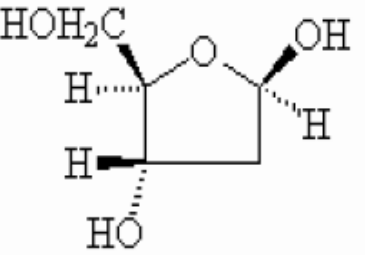
Ενός μορίου φωσφορικού οξέος

Σε κάθε νουκλεοτίδιο η αζωτούχος βάση συνδέεται με τον 1' άνθρακα της δεοξυριβόζης και η φωσφορική ομάδα με τον 5' άνθρακα. Μια **πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα** σχηματίζεται από την ένωση πολλών νουκλεοτιδίων με ομοιοπολικό δεσμό. Ο δεσμός αυτός δημιουργείται μεταξύ του υδροξυλίου του 3' άνθρακα της πεντόζης του πρώτου νουκλεοτιδίου και της φωσφορικής ομάδας που είναι συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόζης του επόμενου νουκλεοτιδίου. Ο δεσμός αυτός ονομάζεται **3' - 5' φωσφοδιεστερικός δεσμός**. Με τον τρόπο αυτό η πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα που δημιουργείται έχει ένα σκελετό, που αποτελείται από επανάληψη των μορίων φωσφορική ομάδα-πεντόζη-φωσφορική ομάδα-πεντόζη. Ανεξάρτητα από τον αριθμό των νουκλεοτιδίων από τα οποία αποτελείται η πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα, το πρώτο της νουκλεοτίδιο έχει πάντα μια ελεύθερη φωσφορική ομάδα συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόζης του και το τελευταίο νουκλεοτίδιό της έχει ελεύθερο το υδροξύλιο του 3' άνθρακα της πεντόζης του. Για το λόγο αυτό αναφέρεται ότι ο προσανατολισμός της πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας είναι $5' \rightarrow 3'$

Συμπληρωματικές γνώσεις

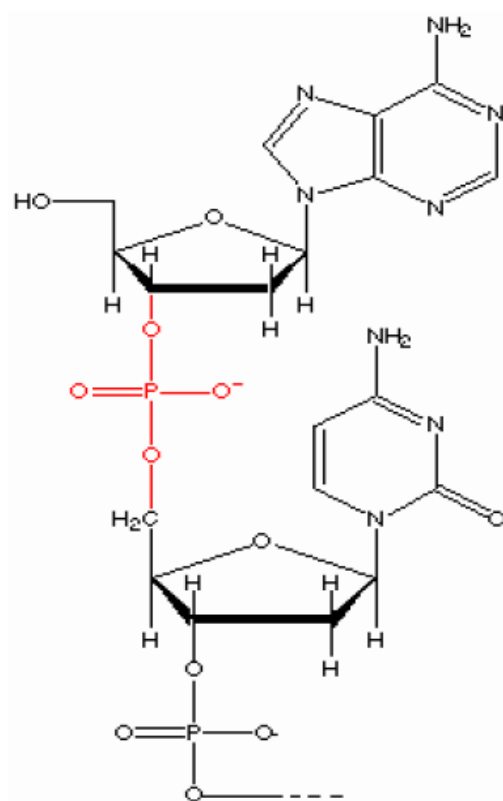
1. Ποιες είναι οι δομικές διαφορές ανάμεσα στα ριβονουκλεοτίδια και στα δεοξυριβονουκλεοτίδια

Τα ριβονουκλεοτίδια έχουν ως πεντόζη τη ριβόζη και την αζωτούχα βάση Ουρακίλη (U), ενώ τα δεοξυριβονουκλεοτίδια έχουν ως πεντόζη τη δεοξυριβόζη και την αζωτούχα βάση Θυμίνη (T).

Ριβονουκλεοτίδια		Δεοξυριβονουκλεοτίδια	
	Τα νουκλεοτίδια του RNA εριέχουν την πεντόζη ριβόζη		Τα νουκλεοτίδια του DNA περιέχουν την πεντόζη δεοξυριβόζη

2. Πως συνδέονται μεταξύ τους τα νουκλεοτίδια μιας πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας;

Μια πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα σχηματίζεται από την ένωση πολλών νουκλεοτιδίων με ομοιοπολικό δεσμό. Ο δεσμός αυτός δημιουργείται μεταξύ του υδροξυλίου του 3' άνθρακα της πεντόζης του πρώτου νουκλεοτιδίου και της φωσφορικής ομάδας που είναι συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόζης του επόμενου νουκλεοτιδίου. Ο δεσμός αυτός ονομάζεται 3' - 5' φωσφοδιεστερικός δεσμός. Με τον τρόπο αυτό η πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα που δημιουργείται έχει ένα σκελετό, που αποτελείται από επανάληψη των μορίων φωσφορική ομάδα-πεντόζη-φωσφορική ομάδα-πεντόζη.



Δύο μονοφωσφορικά νουκλεοτίδια ενώνονται με ομοιοπολικό δεσμό, που δημιουργείται μεταξύ του -OH του 3' άνθρακα της πεντόζης του πρώτου νουκλεοτιδίου και της φωσφορικής ομάδας που είναι συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόζης του επομένου νουκλεοτιδίου. **(3' - 5' φωσφοδιεστερικός δεσμός)**

Είναι αντίδραση συμπύκνωσης, κατά την οποία αποβάλλεται ένα μόριο νερού.

Αν στο δινουκλεοτίδιο προστεθεί ένα ακόμη νουκλεοτίδιο τότε δημιουργείται ένα τρινουκλεοτίδιο με ταυτόχρονη απόσπαση ενός δευτέρου μορίου νερού. Αν η διαδικασία επαναληφθεί πολλές φορές τότε δημιουργείται ένα πολυνουκλεοτίδιο, που αποτελείται από (n) νουκλεοτίδια και αποσπώνται (n-1) συνολικά μόρια νερού.

Το πρώτο νουκλεοτίδιο της αλυσίδας έχει πάντα μια ελεύθερη φωσφορική ομάδα συνδεδεμένη στο 5' άνθρακα της πεντόζης και το τελευταίο νουκλεοτίδιο έχει ελεύθερο το OH- του 3' άνθρακα της πεντόζης του

3. Πόσα νερά αποβάλλονται στο σχηματισμό ενός νουκλεοτιδίου από τα συστατικά του

Κατά τον σχηματισμό ενός νουκλεοτιδίου από τα συστατικά του (δηλαδή την πεντόζη, την αζωτούχο βάση και τη φωσφορική ομάδα) αποβάλλονται 2 μόρια νερού, ένα για την σύνδεση της πεντόζης με την αζωτούχο βάση και ένα για την σύνδεση της πεντόζης με τη φωσφορική ομάδα.

4. Από τι εξαρτάται ο αριθμός των φωσφοδιεστερικών δεσμών που αναπτύσσονται μεταξύ των νουκλεοτιδίων σ' ένα μόριο νουκλεϊκού οξέος

Δομικές μονάδες (μονομερή) των νουκλεϊκών οξέων είναι τα νουκλεοτίδια. Τα νουκλεοτίδια συνδέονται μεταξύ τους μέσω 3'→5' φωσφοδιεστερικών δεσμών. Ο αριθμός των φωσφοδιεστερικών δεσμών που αναπτύσσονται μεταξύ των νουκλεοτιδίων σ' ένα μόριο νουκλεϊκού οξέος εξαρτάται από το είδος του μορίου. Ένα δίκλωνο γραμμικό μόριο DNA με n νουκλεοτίδια σε κάθε μια από τις δύο αλυσίδες έχει $n-1$ φωσφοδιεστερικούς δεσμούς μεταξύ των νουκλεοτιδίων σε κάθε αλυσίδα. Άρα συνολικά $2(n-1) = 2n-2$ φωσφοδιεστερικούς δεσμούς μεταξύ των νουκλεοτιδίων του ή αλλιώς ένα δίκλωνο γραμμικό μόριο DNA με n βάσεις συνολικά περιέχει $n-2$ φωσφοδιεστερικούς δεσμούς. Τα μονόκλιωνα γραμμικά μόρια νουκλεϊκών οξέων (DNA ή RNA) με (n) νουκλεοτίδια περιέχουν $n-1$ φωσφοδιεστερικούς δεσμούς μεταξύ των νουκλεοτιδίων. Αντίθετα κάθε κυκλικό μόριο νουκλεϊκού οξέος (DNA ή RNA, δίκλωνο ή μονόκλωνο) περιέχει τόσους φωσφοδιεστερικούς δεσμούς μεταξύ των νουκλεοτιδίων, όσα είναι τα νουκλεοτίδιά του.

Κατά συνέπεια:

Γραμμικό μονόκλωνο	$\delta = n - 1$
Γραμμικό δίκλωνο	$\delta = n - 2$
Κυκλικό μονόκλωνο ή δίκλωνο	$\delta = n$

Όπου δ οι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί και n ο αριθμός των νουκλεοτιδίων. Για κάθε φωσφοδιεστερικό δεσμό που σχηματίζεται αποβάλλεται και ένα μόριο νερού.

Άσκηση

5. Δύο δίκλινα τμήματα μορίων DNA έχουν τον ίδιο αριθμό ζευγών βάσεων. Το ένα μόριο εμφανίζει 9.000 φωσφοδιεστερικούς δεσμούς, ενώ το άλλο δύο λιγότερους φωσφοδιεστερικούς δεσμούς μεταξύ των νουκλεοτιδίων του. Τι είδους μόριο DNA είναι το καθένα και ποιος ο αριθμός ζευγών βάσεων που αποτελούν τα δύο αυτά μόρια;

Το πρώτο μόριο DNA είναι κυκλικό διότι ο αριθμός των φωσφοδιεστερικών δεσμών είναι ίσος με το αριθμό των νουκλεοτιδίων ($\delta = \nu$) και το δεύτερο μόριο γραμμικό διότι ο αριθμός των φωσφοδιεστερικών δεσμών είναι κατά δύο μικρότερος του αριθμού των νουκλεοτιδίων ($\delta = \nu - 2$). Άρα ο αριθμός των νουκλεοτιδίων που αποτελούν τα μόρια αυτά του DNA είναι 9.000 και ο αριθμός ζευγών βάσεων είναι 4.500

Διατυπώστε το μοντέλο της διπλής έλικας
σύμφωνα με τους Watson και Crick



ισχύει $A=T$ και $G=C$. Επίσης, βρέθηκε ότι η αναλογία των βάσεων $\frac{A+T}{C+C}$ διαφέρει από είδος σε

είδος και σχετίζεται με το είδος του οργανισμού. Τα αποτελέσματα αυτά σε συνδυασμό με αποτελέσματα που αφορούσαν την απεικόνιση του μορίου του DNA με χρήση ακτίνων-X βοήθησαν στην ανακάλυψη της **διπλής έλικας του DNA** και απέδειξαν τις μοναδικές ιδιότητές του που το καθιστούν μόριο ιδανικό ως γενετικό υλικό. Η ανακάλυψη της διπλής έλικας του DNA είναι η μεγαλύτερη βιολογική ανακάλυψη

Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό:

- Το DNA αποτελείται από δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες που σχηματίζουν στο χώρο μία δεξιόστροφη διπλή έλικα.
- Η διπλή έλικα έχει ένα σταθερό σκελετό, που αποτελείται από επαναλαμβανόμενα μόρια φωσφορικής ομάδας - δεοξυριβόζης ενωμένων με φωσφοδιεστερικό δεσμό. Ο σκελετός αυτός είναι υδρόφιλος και βρίσκεται στο εξωτερικό του μορίου. Προς το εσωτερικό του σταθερού αυτού σκελετού βρίσκονται οι αζωτούχες βάσεις που είναι υδρόφοβες.
- Οι αζωτούχες βάσεις της μιας αλυσίδας συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου με τις αζωτούχες βάσεις της απέναντι αλυσίδας με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας. Η αδενίνη συνδέεται μόνο με θυμίνη και αντίστροφα, ενώ η κυτοσίνη μόνο με γουανίνη και αντίστροφα. Οι δεσμοί υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των βάσεων σταθεροποιούν τη δευτεροταγή δομή του μορίου.
- Ανάμεσα στην αδενίνη και στη θυμίνη σχηματίζονται δύο δεσμοί υδρογόνου, ενώ ανάμεσα στη γουανίνη και στην κυτοσίνη σχηματίζονται τρεις δεσμοί υδρογόνου. Οι δύο αλυσίδες ενός μορίου DNA είναι συμπληρωματικές, και αυτό υποδηλώνει ότι η αλληλουχία της μιας καθορίζει την αλληλουχία της άλλης. Η συμπληρωματικότητα έχει τεράστια σημασία για τον αυτοδιπλασιασμό του DNA, μια ιδιότητα που το καθιστά το καταλληλότερο μόριο για τη διατήρηση και τη μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας. Κάθε αλυσίδα DNA μπορεί να

χρησιμεύει ως καλούπι για τη σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλυσίδας, ώστε τελικά να σχηματίζονται δύο δίκλιωνα μόρια DNA πανομοιότυπα με το μητρικό μόριο.

- Οι δύο αλυσίδες είναι αντιπαράλληλες, δηλαδή το 3' άκρο της μίας είναι απέναντι από το 5' άκρο της άλλης.

1. Σε δύο κύτταρα έγινε ανάλυση του γενετικού υλικού και βρέθηκε η παρακάτω επί τοις % σύσταση σε αζωτούχες βάσεις.

	A	T	C	G
Κύτταρο 1:	38	38	12	12
Κύτταρο 2:	21	21	29	29

Τα κύτταρα 1 και 2 ανήκουν στο ίδιο ή σε διαφορετικά είδη οργανισμών; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

Η αναλογία των βάσεων $\frac{A+T}{G+C}$ διαφέρει από είδος σε είδος και σχετίζεται με το είδος οργανισμού

κύτταρο 1 $\frac{A+T}{G+C} = \frac{38+38}{12+12} = \frac{76}{24} = 3,167$ κύτταρο 2 $\frac{A+T}{G+C} = \frac{21+21}{29+29} = \frac{42}{58} = 0,724$

Άρα τα κύτταρα 1 και 2 ανήκουν σε διαφορετικούς οργανισμούς.

3. Από την ανάλυση μιας αλυσίδας ενός μορίου DNA βρέθηκε αδενίνη (A) 25%, θυμίνη (T) 20% και κυτοσίνη (C) 30%. Να βρεθεί το % ποσοστό των διαφορετικών νουκλεοτιδίων, στο μόριο του DNA.

Υπολογίζω το ποσοστό της γουανίνης με τη σχέση $A+T+G+C = 100 \Rightarrow G = 100-A-T-C = 100-25-20-30 \Rightarrow G = 25$ και συμπληρώνω τον πίνακα σύμφωνα με την Συμπληρωματικότητα των βάσεων. Το % ποσοστό των διαφορετικών νουκλεοτιδίων, στο μόριο του DNA είναι:

Αδενίνη + Θυμίνη $45\% :2= 22,5\%$ και Κυτοσίνη + Γουανίνη $55\%:2=27,5\%$

	1^η Αλυσίδα	2^η Αλυσίδα	DNA
Αδενίνη	25%	20%	22,5%
Θυμίνη	20%	25%	22,5%
Κυτοσίνη	30%	25%	27,5%
Γουανίνη	25%	30%	27,5%

Διαφορές RNA - DNA

	DNA	RNA
α	Το DNA αποτελείται από δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες, τους κλώνους, που σχηματίζουν διπλή έλικα.	Το RNA συνήθως μονόκλωνο.
β	Το DNA αποτελείται από νουκλεοτίδια που περιέχουν την δεοξυριβόζη (δεοξυριβονουκλεοτίδια)	Το RNA αποτελείται από νουκλεοτίδια που περιέχουν ριβόζη (ριβονουκλεοτίδια).
γ	Οι αζωτούχες βάσεις των νουκλεοτιδίων του DNA είναι η αδενίνη, η γουανίνη, η κυτοσίνη και η θυμίνη με σταθερή αναλογία μεταξύ των βάσεων $\frac{A}{T} = \frac{G}{C} = 1:1$	Οι αζωτούχες βάσεις των νουκλεοτιδίων του RNA είναι η αδενίνη, η γουανίνη, η κυτοσίνη και η ουρακίλη. Μεταξύ των βάσεων δεν υπάρχει σταθερή αναλογία.


δ	<p>Το DNA είναι το γενετικό υλικό του κυττάρου και ο ρόλος του είναι να μεταφέρει τις γενετικές πληροφορίες και να τις μεταβιβάζει από γενιά σε γενιά, καθώς επίσης να ελέγχει την κυτταρική δραστηριότητα και να επιτρέπει τη δημιουργία γενετικής ποικιλομορφίας</p> <p>Η αναλογία των βάσεων</p> $\frac{A + T}{G + C}$ <p>διαφέρει από είδος σε είδος και σχετίζεται με το είδος του οργανισμού</p>	<p>Το RNA υπάρχει σε τέσσερις τύπους. Το αγγελιοφόρο m-RNA, που μεταφέρει τη γενετική πληροφορία στα ριβοσώματα.</p> <p>Το μεταφορικό t-RNA, που μεταφέρει τα αμινοξέα στα ριβοσώματα.</p> <p>Το ριβοσωμικό r-RNA, που αποτελεί δομικό συστατικό των ριβοσωμάτων και Το μικρό πυρηνικό Sn-RNA</p> <p>Τέλος, το RNA μπορεί να αποτελεί το γενετικό υλικό ορισμένων ιών.</p>
ε	<p>Το DNA των ευκαρυωτικών κυττάρων βρίσκεται στον πυρήνα, στα μιτοχόνδρια και τους χλωροπλάστες.</p>	<p>Το RNA βρίσκεται στον πυρήνα, στα μιτοχόνδρια, στους χλωροπλάστες και το κυτταρόπλασμα.</p>
στ	<p>Γενετικό υλικό όλων των κυττάρων και των περισσοτέρων ιών</p>	<p>Ανάλογα με τη μορφή του και οι λειτουργίες του.</p>
ζ	<p>Κατά κανόνα (με εξαίρεση τους γαμέτες) έχει σταθερή ποσότητα σε όλα τα κύτταρα</p>	<p>Έχει διαφορετική ποσότητα σε κάθε τύπο κυττάρου ανάλογα με τη λειτουργική του διαφοροποίηση</p>

Ποιες είναι οι λειτουργίες του
γενετικού υλικού;




Tο DNA αποτελεί το γενετικό υλικό όλων των κυττάρων και των περισσότερων ιών. Κάποιοι ιοί έχουν ως γενετικό υλικό RNA (RNA-ιοί).

Συνοπτικά οι λειτουργίες του γενετικού υλικού είναι:

- **Η αποθήκευση** της γενετικής πληροφορίας. Στο DNA (ή στο RNA των RNA ιών) περιέχονται οι πληροφορίες που καθορίζουν όλα τα χαρακτηριστικά ενός οργανισμού και οι οποίες οργανώνονται σε λειτουργικές μονάδες, τα γονίδια.
 - **Η διατήρηση** και η μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας από κύτταρο σε κύτταρο και από οργανισμό σε οργανισμό, που εξασφαλίζονται με τον αυτοδιπλασιασμό του DNA.
 - **Η έκφραση** των γενετικών πληροφοριών, που επιτυγχάνεται με τον έλεγχο της σύνθεσης των πρωτεϊνών.
- 

Το γενετικό υλικό ενός κυττάρου αποτελεί το **γονιδίωμα** του. Τα κύτταρα στα οποία το γονιδίωμα υπάρχει σε ένα μόνο αντίγραφο, όπως είναι τα προκαρυωτικά κύτταρα και οι γαμέτες των διπλοειδών οργανισμών, ονομάζονται **απλοειδή**. Τα κύτταρα στα οποία το γονιδίωμα υπάρχει σε δύο αντίγραφα, όπως είναι τα σωματικά κύτταρα των ανώτερων ευκαρυωτικών οργανισμών, ονομάζονται **διπλοειδή**. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα το γενετικό υλικό κατανέμεται στον πυρήνα, στα μιτοχόνδρια και στους χλωροπλάστες. Συνήθως όμως ο όρος γονιδίωμα αναφέρεται στο γενετικό υλικό που βρίσκεται στον πυρήνα.

Για την περιγραφή του μήκους ή της αλληλουχίας ενός νουκλεϊκού οξέος χρησιμοποιείται ο όρος **αριθμός ή αλληλουχία βάσεων** αντίστοιχα. Στην πραγματικότητα εννοούμε τον αριθμό ή την ακολουθία των νουκλεοτιδίων του νουκλεϊκού οξέος. Η απλούστευση αυτή γίνεται γιατί το μόνο τμήμα του νουκλεοτιδίου που αλλάζει είναι η αζωτούχος βάση. Έτσι αναφέρεται ότι ένα μόριο DNA έχει μήκος 2.000 ζεύγη βάσεων, επειδή είναι δίκλωνο, ενώ ένα μόριο mRNA έχει μήκος 2.000 βάσεις επειδή είναι μονόκλωνο.




Ποια η μορφή του γενετικού υλικού των
προκαρυωτικών κυττάρων;

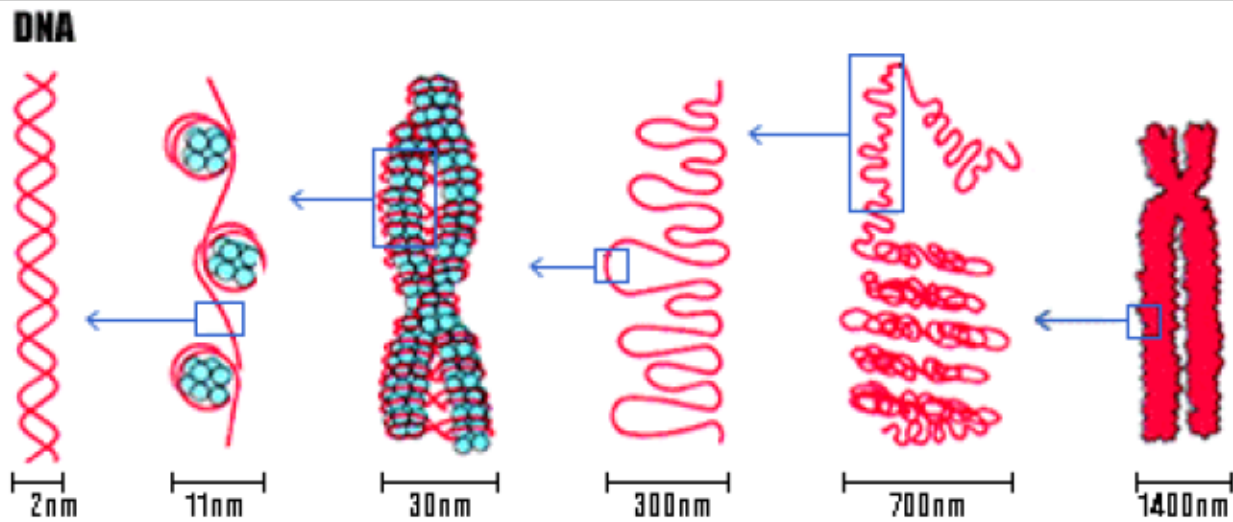


Tο γενετικό υλικό των προκαρυωτικών κυττάρων είναι ένα **δίκλωνο κυκλικό μόριο DNA** μήκους περίπου 1mm. Το κυκλικό αυτό μόριο DNA αναδιπλώνεται και πακετάρεται με τη βοήθεια κυρίως πρωτεϊνών με αποτέλεσμα να έχει τελικό μήκος στο κύτταρο 1μm. Περιέχει ένα αντίγραφο του γονιδιώματος, άρα τα προκαρυωτικά κύτταρα είναι απλοειδή.

Σε πολλά βακτήρια, εκτός από το κύριο κυκλικό μόριο DNA, υπάρχουν και τα **πλασμίδια**. Τα πλασμίδια είναι δίκλιωνα, κυκλικά μόρια DNA με διάφορα μεγέθη. Περιέχουν μικρό ποσοστό της γενετικής πληροφορίας και αποτελούν το 1 - 2% του βακτηριακού DNA. Ένα βακτήριο μπορεί να περιέχει ένα ή περισσότερα πλασμίδια, τα οποία αντιγράφονται ανεξάρτητα από το κύριο μόριο DNA του βακτηρίου. Μεταξύ των γονιδίων που περιέχονται στα πλασμίδια υπάρχουν γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά και γονίδια που σχετίζονται με τη μεταφορά γενετικού υλικού από ένα βακτήριο σε άλλο. Τα πλασμίδια έχουν τη δυνατότητα να ανταλλάσσουν γενετικό υλικό τόσο μεταξύ τους όσο και με το κύριο μόριο DNA του βακτηρίου, καθώς και να μεταφέρονται από ένα βακτήριο σε άλλο. Με τον τρόπο αυτό μετασηματίζουν το βακτήριο στο οποίο εισέρχονται και του προσδίδουν καινούριες ιδιότητες. Τα πλασμίδια αποτελούν πολύτιμο εργαλείο των τεχνικών της Γενετικής Μηχανικής, όπως θα αναλυθεί στο κεφάλαιο του ανασυνδυασμένου DNA.




Ποια η μορφή του γενετικού υλικού των ευκαρυωτικών κυττάρων;



Το γενετικό υλικό των ευκαρυωτικών κυττάρων έχει μεγαλύτερο μήκος από αυτό των προκαρυωτικών. Το συνολικό DNA που υπάρχει σε κάθε ευκαρυωτικό κύτταρο δεν είναι ένα ενιαίο μόριο, αλλά αποτελείται από πολλά ευθύγραμμα κομμάτια, ο αριθμός και το μήκος των οποίων είναι χαρακτηριστικά για τα διάφορα είδη των οργανισμών. Τα κομμάτια του DNA πακετάρονται με πρωτεΐνες και σχηματίζουν τα ινίδια χρωματίνης. Τα ινίδια αναδιπλώνονται και δημιουργούν τα χρωμοσώματα. Το συνολικό DNA στα διπλοειδή κύτταρα του ανθρώπου έχει μήκος Περίπου 2m και συσπειρώνεται σε τέτοιο βαθμό, ώστε να χωράει στον πυρήνα, που έχει διάμετρο δέκα εκατομμυριοστά του μέτρου!

Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, ύστερα από ειδική επεξεργασία, τα ινίδια χρωματίνης μοιάζουν με κομπολόγια από χάντρες. Κάθε “χάντρα” ονομάζεται **νουκλεόσωμα** και αποτελεί τη βασική μονάδα οργάνωσης της χρωματίνης. Το νουκλεόσωμα αποτελείται από DNA μήκους 146 ζευγών βάσεων και από οκτώ μόρια πρωτεϊνών, που ονομάζονται **ιστόνες**. Το DNA είναι τυλιγμένο γύρω από το οκταμερές των ιστονών. Τα νουκλεοσώματα αναδιπλώνονται με αποτέλεσμα το DNA να πακετάρεται σε μεγαλύτερο βαθμό, σχηματίζοντας τελικά τα ινίδια της χρωματίνης. Στην αναδίπλωση συμμετέχουν και άλλα είδη πρωτεϊνών.



Αν παρατηρήσουμε το γενετικό υλικό ενός ευκαρυωτικού κυττάρου, βλέπουμε ότι εμφανίζεται με διαφορετικές χαρακτηριστικές μορφές, ανάλογα με το στάδιο του **κυτταρικού κύκλου**. Κατά τη μεσόφαση τα χρωμοσώματα έχουν μικρό βαθμό συσπείρωσης και σχηματίζουν δίκτυο ινιδίων χρωματίνης. Κατά συνέπεια δεν είναι ορατά ως μεμονωμένες δομές με το οπτικό μικροσκόπιο. Με το τέλος της αντιγραφής κάθε ινίδιο χρωματίνης έχει διπλασιαστεί. Τα δύο αντίγραφα κάθε ινιδίου συνδέονται μεταξύ τους με μία δομή που ονομάζεται **κεντρομερίδιο**.

Ο όρος **αδελφές χρωματίδες** χρησιμοποιείται για να περιγράψει τα διπλασιασμένα χρωμοσώματα κατά το χρονικό διάστημα που είναι συνδεδεμένα στο κεντομερίδιο. Στη κυτταρική διαίρεση οι αδελφές χρωματίδες συσπειρώνονται και κατά το στάδιο της μετάφασης αποκτούν μέγιστο βαθμό συσπείρωσης. Στο στάδιο αυτό ο υψηλός βαθμός συσπείρωσης καθιστά τα μεταφασικά χρωμοσώματα ευδιάκριτα και έτσι είναι εύκολο να παρατηρηθούν με το οπτικό μικροσκόπιο. Στο τέλος της κυτταρικής διαίρεσης προκύπτουν δύο νέα κύτταρα, όμοια μεταξύ τους, και με το αρχικό, αφού το καθένα περιέχει τη μία από τις δύο «πρώην» αδελφές χρωματίδες από κάθε χρωμόσωμα.

Θα μπορούσαμε να πούμε ότι τα ινίδια της χρωματίνης, τα χρωμοσώματα και οι χρωματίδες αποτελούν «διαφορετικές όψεις του ίδιου νομίσματος». Τα ινίδια της χρωματίνης διπλασιάζονται στη μεσόφαση, συσπειρώνονται και «μετατρέπονται» σε αδελφές χρωματίδες, οι οποίες γίνονται ευδιάκριτες στην κυτταρική διαίρεση. Κατά το τέλος της κυτταρικής διαίρεσης αποχωρίζονται πλήρως, αποσυσπειρώνονται σταδιακά και «μετατρέπονται» πάλι σε ινίδια χρωματίνης στο μεσοφασικό πυρήνα των νέων κυττάρων κ.ο.κ. Παρ' όλες όμως τις μορφολογικές αυτές μεταβολές η χημική σύσταση του γενετικού υλικού παραμένει αμετάβλητη.

ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ

ΜΕΤΑΒΙΒΑΣΗ DNA

Μονοκύτταροι οργανισμοί

Η μετάβαση της γενετικής πληροφορίας από κύτταρο σε κύτταρο συνεπάγεται αυτόματα και τη μεταφορά από οργανισμό σε οργανισμό και ως εκ τούτου τη διατήρησή της μέσω του διπλασιασμού του γενετικού υλικού και της διαίρεσης του κυττάρου

Πολυκύτταροι οργανισμοί

Από κύτταρο σε κύτταρο

Οι πολυκύτταροι οργανισμοί αποτελούνται από κύτταρα που προέρχονται από σύντηξη ενός **ωαρίου** με ένα **σπερματοζώαριο** σχηματίζοντας **το ζυγωτό**. Το γενετικό υλικό του ζυγωτού διπλασιάζεται και το ζυγωτό διαιρείται σχηματίζοντας δύο θυγατρικά κύτταρα με τη διαδικασία της **μίτωσης**. Τα θυγατρικά κύτταρα που προκύπτουν περιέχουν τις ίδιες γενετικές πληροφορίες.

Από οργανισμό σε οργανισμό

Μέσω της διαδικασίας της **μείωσης** παράγονται οι γαμέτες στα γενετικά όργανα των ανώτερων οργανισμών. Είναι απλοειδή κύτταρα και περιέχουν τη μισή ποσότητα γενετικού υλικού σε σχέση με τα διπλοειδή σωματικά κύτταρα. Μέσω της κοινής συνεισφοράς των γαμετών σχηματίζεται το ζυγωτό, το οποίο αναπτύσσεται σε έμβρυο. Έτσι η γενετική πληροφορία μεταβιβάζεται από γενιά σε γενιά

Τι είναι καρυότυπος;



Tο ανθρώπινο γονιδίωμα σε ένα απλοειδές κύτταρο αποτελείται από περίπου 3×10^9 ζεύγη βάσεων DNA, που είναι οργανωμένα σε 23 χρωμοσώματα. Η μελέτη των χρωμοσωμάτων είναι δυνατή μόνο σε κύτταρα τα οποία διαιρούνται. Τα κύτταρα αυτά μπορεί να προέρχονται είτε από ιστούς που διαιρούνται φυσιολογικά είτε από κυτταροκαλλιέργειες, όπου γίνεται *in vitro* επαγωγή της διαίρεσης με ουσίες που έχουν μιτογόνο δράση. Τα χρωμοσώματα μελετώνται στο στάδιο της μετάφασης, όπου εμφανίζουν το μεγαλύτερο βαθμό συσπείρωσης και είναι ευδιάκριτα. Επειδή σε ένα πληθυσμό διαιρούμενων κυττάρων το ποσοστό αυτών που βρίσκονται στη μετάφαση είναι μικρό, χρησιμοποιούνται ουσίες οι οποίες σταματούν την κυτταρική διαίρεση στη φάση αυτή. Στη συνέχεια τα κύτταρα επωάζονται σε υποτονικό διάλυμα, ώστε να σπάσει η κυτταρική τους μεμβράνη, και τα χρωμοσώματά τους απλώνονται σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Τέλος, χρωματίζονται με ειδικές χρωστικές ουσίες και παρατηρούνται στο μικροσκόπιο.



Κάθε φυσιολογικό μεταφασικό χρωμόσωμα αποτελείται από δύο αδελφές χρωματίδες, στις οποίες συγκρατούνται στο κεντρομερίδιο. Το κεντρομερίδιο «διαιρεί» κάθε χρωματίδα σε δύο βραχίονες, ένα μεγάλο και ένα μικρό. Τα μεταφασικά χρωμοσώματα ενός κυττάρου διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το μέγεθος και ως προς τη θέση του κεντρομεριδίου. Τα χρωμοσώματα ταξινομούνται σε ζεύγη κατά ελαττούμενο μέγεθος. Η απεικόνιση αυτή αποτελεί τον **καρυότυπο**. Ο αριθμός και η μορφολογία των χρωμοσωμάτων είναι ιδιαίτερο χαρακτηριστικό κάθε είδους. Στον άνθρωπο τα φυσιολογικά αρσενικά και θηλυκά άτομα έχουν στον πυρήνα των σωματικών τους κυττάρων **23 ζεύγη χρωμοσωμάτων**. Το ένα χρωμόσωμα κάθε ζεύγους είναι πατρικής και το άλλο μητρικής προέλευσης και ελέγχουν τις ίδιες ιδιότητες. Από τα 23 ζεύγη τα 22 είναι μορφολογικά ίδια στα αρσενικά και στα θηλυκά άτομα και ονομάζονται **αυτοσωμικά χρωμοσώματα**. Το 23ο ζεύγος στα θηλυκά άτομα αποτελείται από δύο X χρωμοσώματα, ενώ στα αρσενικά από ένα X και ένα Y χρωμόσωμα. Το Y χρωμόσωμα είναι μικρότερο σε μέγεθος από το X. Τα χρωμοσώματα αυτά ονομάζονται **φυλετικά** και σε πολλούς οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου, καθορίζουν το φύλο. Στον άνθρωπο η παρουσία του Y χρωμοσώματος καθορίζει το αρσενικό άτομο, ενώ η απουσία του το θηλυκό άτομο. Έτσι, ένα φυσιολογικό αρσενικό άτομο έχει 44 αυτοσωμικά χρωμοσώματα και ένα ζεύγος XY, ενώ ένα φυσιολογικό θηλυκό 44 αυτοσωμικά και ένα ζεύγος XX.

ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ

ΣΩΜΑΤΙΚΟ ΚΥΤΤΑΡΟ			ΓΑΜΕΤΗΣ	
	ΜΕΣΟΦΑΣΗ		ΜΙΤΩΣΗ	ωάριο ή σπερματοζωάριο
	ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ		
Ζεύγη βάσεων	$6 \cdot 10^9$	$12 \cdot 10^9$	$12 \cdot 10^9$	$3 \cdot 10^9$
Μόρια DNA	46	92	92	23
Ινίδια χρωματίνης	46	92		23
Χρωμοσώματα	46	46	46	23
Συνολικό μήκος	2m	2m+2m	2m+2m	1m

Ποιες είναι οι τεχνικές δημιουργίας
καρυότυπου;



ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΡΥΟΤΥΠΟΥ

Απομόνωση σωματικών κυττάρων ενός οργανισμού. Τα κύτταρα πρέπει να βρίσκονται στο στάδιο της μίτωσης και γι' αυτό μπορεί να προέρχονται από:

- ✓ ιστούς των οποίων τα κύτταρα διαιρούνται φυσιολογικά ή
- ✓ κυτταροκαλλιέργειες στις οποίες, με τεχνητό τρόπο, γίνεται επαγωγή της διαίρεσης *in vitro*, με ουσίες που έχουν μιτογόνο δράση (προκαλείται μίτωση) .

Τα χρωμοσώματα μελετώνται στο στάδιο της μετάφασης. Όμως αυτή η φάση διαρκεί ελάχιστα. Έτσι, στο σύνολο των διαιρούμενων κυττάρων που διαθέτουμε, το ποσοστό αυτών που βρίσκονται στη μετάφαση είναι μικρό, κάτι που καθιστά τη μελέτη δύσκολη. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται ουσίες οι οποίες σταματούν την κυτταρική διαίρεση στη φάση αυτή και τα μεταφασικά χρωμοσώματα παραμένουν ως έχουν. Τα κύτταρα επωάζονται σε υποτονικό διάλυμα, ώστε να σπάσει η κυτταρική τους μεμβράνη και να απομονωθούν τα χρωμοσώματα. Τα χρωμοσώματα απλώνονται σε γυάλινη αντικειμενοφόρο πλάκα.

Τα χρωμοσώματα, έστω και στην πιο συσπειρωμένη μορφή τους, δεν παύουν να αποτελούν πολύ λεπτές και μικροσκοπικές δομές. Προκειμένου να γίνουν ευδιάκριτα στο οπτικό μικροσκόπιο, χρωματίζονται με ειδικές χρωστικές ουσίες..

Να συγκριθεί το γενετικό υλικό
προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών
οργανισμών



ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΑ

γονιδίωμα απλοειδές

δίκλωνο κυκλικό μόριο DNA μήκους περίπου 1mm

Το DNA αναδιπλώνεται και πακετάρεται με τη βοήθεια πρωτεϊνών ώστε να έχει τελικό μήκος 1 μm

Το DNA εντοπίζεται συγκεντρωμένο σε μια περιοχή, το πυρηνοειδές, ενώ δεν υπάρχει οργανωμένος πυρήνας

υπάρχουν πλασμίδια

ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΑ

γονιδίωμα διπλοειδές

γραμμικό DNA (σε διπλοειδές κύτταρο ανθρώπου φτάνει τα 2 m) που δεν είναι ένα ενιαίο μόριο, αλλά αποτελείται από πολλά ευθύγραμμα τμήματα, ο αριθμός και το μήκος των οποίων είναι χαρακτηριστικά για το είδος του οργανισμού

DNA με ιστόνες σχηματίζει νουκλεοσώματα που πακετάρονται με μη-ιστόνες και σχηματίζουν ινίδια χρωματίνης που κατά την κυτταρική διαίρεση αναδιπλώνονται σε θηλίες και σχηματίζουν χρωμοσώματα

DNA εντοπίζεται σε πυρήνα, μιτοχόνδρια και χλωροπλάστες

δεν υπάρχουν πλασμίδια

Γιατί τα μιτοχόνδρια και οι χλωροπλάστες
λέγονται ημιαυτόνομα οργανίδια



Tα μιτοχόνδρια και οι χλωροπλάστες έχουν DNA. Το γενετικό υλικό των μιτοχονδρίων και των χλωροπλαστών περιέχει πληροφορίες σχετικές με τη λειτουργία τους, δηλαδή σχετικά με την οξειδωτική φωσφορυλίωση και τη φωτοσύνθεση αντίστοιχα, και κωδικοποιεί μικρό αριθμό πρωτεϊνών. Οι περισσότερες όμως πρωτεΐνες που είναι απαραίτητες για τη λειτουργία των μιτοχονδρίων και των χλωροπλαστών κωδικοποιούνται από γονίδια που βρίσκονται στο DNA του πυρήνα. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι τα οργανίδια αυτά δεν είναι ανεξάρτητα από τον πυρήνα του κυττάρου και για το λόγο αυτό χαρακτηρίζονται ως **ημιαυτόνομα**.

Το μιτοχονδριακό DNA στους περισσότερους οργανισμούς είναι κυκλικό μόριο. Κάθε μιτοχόνδριο περιέχει δύο έως δέκα αντίγραφα του κυκλικού μορίου DNA. Σε ορισμένα όμως κατώτερα πρωτόζωα είναι γραμμικό. Το ζυγωτό των ανώτερων οργανισμών περιέχει μόνο τα μιτοχόνδρια που προέρχονται από το θάριο. Επομένως, η προέλευση των μιτοχονδριακών γονιδίων είναι μητρική.

Το DNA των χλωροπλαστών είναι κυκλικό μόριο και έχει μεγαλύτερο μέγεθος από το μιτοχονδριακό DNA.



Τι γνωρίζετε για το γενετικό υλικό
των ιών;



Οι ιοί έχουν γενετικό υλικό DNA ή RNA

Οι ιοί περιέχουν ένα μόνο είδος νουκλεϊκού οξέος, το οποίο μπορεί να είναι DNA ή RNA. Το DNA των ιών μπορεί να είναι μονόκλωνο ή δίκλωνο, γραμμικό ή κυκλικό. Οι RNA-ιοί έχουν συνήθως γραμμικό RNA (σε σπάνιες περιπτώσεις είναι κυκλικό), το οποίο μπορεί να είναι μονόκλωνο ή δίκλωνο.

Ασκήσεις με απαντήσεις



ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ - ΕΡΓΑΣΙΕΣ - ΜΕ ΑΠΑΝΤΗΣΗ

- 1. Το DNA σε δύο διαφορετικά κύτταρα ανθρώπου βρέθηκε ότι αποτελείται στο ένα από 3×10^9 και στο άλλο από 6×10^9 ζεύγη βάσεων. Πώς μπορεί να εξηγηθεί αυτό;**

Γνωρίζουμε ότι το ανθρώπινο γονιδίωμα σε ένα απλοειδές κύτταρο αποτελείται από 3×10^9 περίπου ζευγάρια νουκλεοτιδίων DNA, που είναι οργανωμένα σε 23 χρωμοσώματα. Επομένως, το πρώτο κύτταρο θα είναι απλοειδές, Στον άνθρωπο απλοειδή κύτταρα είναι οι γαμέτες (ωάριο ή σπερματοζωάριο). Το δεύτερο κύτταρο περιέχει $2 \times (3 \times 10^9)$ ζευγάρια νουκλεοτιδίων DNA και επομένως είναι διπλοειδές. Στον άνθρωπο διπλοειδή Είναι όλα τα σωματικά κύτταρα

- 2. Με ποιον από τους τρόπους που αναφέρονται πιο κάτω συνδέεται κάθε νουκλεοτίδιο με το αμέσως επόμενο του στην πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα του DNA;**
 - α. Η φωσφορική ομάδα του ενός με την αζωτούχο βάση του επόμενου"**
 - β. Η φωσφορική ομάδα του ενός με τη δεοξυριβόζη του επόμενου.**
 - γ. Η αζωτούχος βάση του ενός με τη δεοξυριβόζη του επόμενου.**
 - δ. Οι αζωτούχες βάσεις δύο συνεχόμενων νουκλεοτιδίων με δεσμούς υδρογόνου.**
 - ε. Η δεοξυριβόζη του ενός με τη φωσφορική ομάδα του επόμενου.**
 - στ. Οι φωσφορικές ομάδες δύο συνεχόμενων νουκλεοτιδίων μεταξύ τους.**

Σωστή απάντηση είναι η ε.

- 3. Σε μόριο DNA ευκαρυωτικού κυττάρου η αδενίνη αποτελεί το 20% των (αζωτούχων βάσεων του. Σε ποιες αναλογίες (%) βρίσκεται η καθεμία από τις υπόλοιπες αζωτούχες βάσεις του;**

Γνωρίζουμε ότι, λόγω της συμπληρωματικότητας των βάσεων, σε ένα μόριο DNA η ποσότητα της αδενίνης είναι ίση με την ποσότητα της θυμίνης, επομένως και η θυμίνη θα είναι, σε ποσοστό 20%. Οι δύο άλλες; αζωτούχες βάσεις θα βρίσκονται επίσης σε ίση; μεταξύ τους ποσότητες. Αν από το 100% των αζωτούχων βάσεων αφαιρέσουμε 20%, που αντιστοιχεί, στην αδενίνη και 20%, που αντιστοιχεί στη θυμίνη, μένει 60%, από το οποίο το 30% αντιστοιχεί στη γουανίνη και το 30% αντιστοιχεί στην κυτοσίνη.

4. Να αναφέρετε, συνοπτικά τις λειτουργίες του γενετικού υλικού.

Συνοπτικά οι λειτουργίες του γενετικού υλικού είναι:

- Η αποθήκευση της γενετικής πληροφορίας. Στο DNA (ή το RNA των RNA ιών) περιέχονται οι πληροφορίες που καθορίζουν όλα τα χαρακτηριστικά ενός οργανισμού και οι οποίες οργανώνονται σε λειτουργικές μονάδες, τα γονίδια.
- Η διατήρηση και η μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας από κύτταρο σε κύτταρο και από οργανισμό σε οργανισμό, που εξασφαλίζονται με τον αυτοδιπλασιασμό του DNA.
- Η έκφραση των γενετικών πληροφοριών, που επιτυγχάνεται με τον έλεγχο της σύνθεσης των πρωτεϊνών.

5. Οι επιστήμονες μπορούν να κατασκευάσουν ένα σύνθετο ιό, που προσβάλλει βακτήρια (βακτηριοφάγος ή φάγος) και ο οποίος έχει το πρωτεϊνικό κάλυμμα του φάγου T_2 και το DNA του φάγου T_4 . Όταν ο σύνθετος αυτός φάγος μολύνει ένα βακτήριο, οι απόγονοι φάγοι που θα παραχθούν θα έχουν:

- α. τις πρωτεΐνες του φάγου T_2 και το DNA του φάγου T_4
- β. τις πρωτεΐνες του φάγου T_4 και το DNA του φάγου T_2
- γ. μείγμα του DNA και των πρωτεϊνών και των δύο φάγων
- δ. τις πρωτεΐνες και το DNA του φάγου T_2
- ε. τις πρωτεΐνες και το DNA του φάγου T_4

Ποια από τις προτάσεις α, β, γ, δ, ε είναι η σωστή; Τεκμηριώστε την απάντησή σας.

Σωστή απάντηση είναι η ε. Γιατί γνωρίζουμε ότι το DNA αποτελεί το γενετικό υλικό και είναι υπεύθυνο για τη μεταβίβαση των γενετικών πληροφοριών στους απογόνους, καθώς και για την έκφρασή τους, που επιτυγχάνεται με τον έλεγχο της σύνθεσης των πρωτεϊνών. Ο σύνθετος ιός έχει DNA του φάγου T_4 και επομένως οι απόγονοι φάγοι που θα παραχθούν θα έχουν τις πρωτεΐνες και το DNA του φάγου T_4 .

6. Τι είναι τα πλασμίδια; Να αναφέρετε δύο σημαντικά είδη γονιδίων που εντοπίζονται σε αυτά.

Στα βακτήρια εκτός από το κύριο κυκλικό μόριο DNA υπάρχουν και τα πλασμίδια.

Τα πλασμίδια είναι δίκλιωνα κυκλικά μόρια DNA σε διάφορα μεγέθη. Περιέχουν μικρό ποσοστό της γενετικής πληροφορίας και αποτελούν το 1 -2% του βακτηριακού DNA. Ένα βακτήριο μπορεί να περιέχει ένα ή περισσότερα πλασμίδια τα οποία αντιγράφονται ανεξάρτητα από το κύριο μόριο DNA του βακτηρίου. Μεταξύ των γονιδίων που περιέχονται στα πλασμίδια υπάρχουν γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά και γονίδια που σχετίζονται με τη μεταφορά γενετικού υλικού από ένα βακτήριο σε άλλο. Τα πλασμίδια έχουν τη δυνατότητα να ανταλλάσσουν γενετικό υλικό τόσο μεταξύ τους όσο και με το κύριο μόριο DNA του βακτηρίου, καθώς και να μεταφέρονται από ένα βακτήριο σε άλλο. Με τον τρόπο αυτό μετασχηματίζουν το βακτήριο στο οποίο εισέρχονται και του προσδίδουν καινούριες ιδιότητες.

7. Ποια από τις παρακάτω προτάσεις είναι σωστή όσον αφορά τα νουκλεοσώματα;

α. Κατασκευάζονται από χρωμοσώματα

β. Αποτελούνται αποκλειστικά από DNA

γ. Αποτελούνται από DNA που τυλίγεται γύρω από πρωτεΐνες (ιστόνες)

δ. Δημιουργούνται μόνο κατά την κυτταρική διαίρεση

ε. Εμφανίζονται μόνο κατά τη μεσόφαση

Η σωστή πρόταση είναι η γ

8. Να τοποθετήσετε κατά μέγεθος από το μικρότερο στο μεγαλύτερο τα: Χρωμόσωμα, νουκλεοτίδιο, γονίδιο, νουκλεόσωμα.

(Ένα μέσο γονίδιο έχει μήκος 1.000 ζεύγη βάσεων)

Σωστή σειρά κατά μέγεθος από το μικρότερο στο μεγαλύτερο είναι: νουκλεοτίδιο, νουκλεόσωμα, γονίδιο, χρωμόσωμα.

9. Στο κείμενο που ακολουθεί διαγράψτε λέξεις ή φράσεις, ώστε η πρόταση που θα παραμείνει να είναι σωστή.

Το γενετικό υλικό του μιτοχονδρίου είναι ένα [μονόκλωνο-δίκλωνο] μόριο [DNA-RNA] συνήθως [γραμμικό-κυκλικό] και περιέχει γενετικές πληροφορίες για [όλες-μερικές από] τις λειτουργίες του.

Η σωστή πρόταση είναι: Το γενετικό υλικό του μιτοχονδρίου είναι [δίκλωνο] μόριο [DNA] συνήθως [κυκλικό] και περιέχει γενετικές πληροφορίες για [μερικές από] τις λειτουργίες του.

10. Η *Acetabularia* είναι ένας μονοκύτταρος οργανισμός με διαφοροποιημένα τμήματα: βάση, μίσχο και καπέλο. Σε ένα πείραμα ο J. Hummering μεταμόσχευσε στη βάση του είδους *Acetabularia crenulata* το μίσχο από το είδος *Acetabularia mediteranea* και αντίστροφα. Και στις δύο περιπτώσεις το καπέλο που σχηματίστηκε καθορίστηκε από τη βάση του οργανισμού, όπου βρίσκεται ο πυρήνας, και όχι από το μίσχο, που συνδέεται άμεσα με το καπέλο. Ποια συμπεράσματα βγαίνουν;

Όπως γνωρίζουμε, ο πυρήνας περιέχει το γενετικό υλικό και ελέγχει όλες τις λειτουργίες και τα χαρακτηριστικά των κυττάρων " Με τη μεταμόσχευση ο μίσχος από το είδος *Acetabularia mediteranea* απέκτησε τον πυρήνα του είδους *Acetabularia crenulata* και επομένως και τις γενετικές πληροφορίες για το σχηματισμό καπέλου του είδους *Acetabularia crenulata*. Το αντίστροφο συνέβη με το μίσχο από το είδος *Acetabularia crenulata* , που απέκτησε τον πυρήνα του είδους *Acetabularia mediteranea*.

ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΕΝΝΟΙΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ Γ ΛΥΚΕΙΟΥ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ

Κεφάλαιο Δεύτερο

Ενότητα: Αντιγραφή – Έκφραση-
ρύθμιση γενετικής πληροφορίας

Περιγράψτε τη διαδικασία αντιγραφής DNA



Η ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΣΥΝΟΠΤΙΚΑ

ΣΚΟΠΟΣ: Η δημιουργία δύο αντιγράφων του γενετικού υλικού, στο κύτταρο που θα μοιραστούν στα θυγατρικά κύτταρα κατά την κυτταρική διαίρεση.

ΤΙ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ:

DNA + κατάλληλα ένζυμα + ριβονουκλεοτίδια + δεσοξυριβονουκλεοτίδια + ενέργεια.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ:

1. Πρόσδεση DNA ελικάσης σε θέση έναρξης αντιγραφής.
2. Τοπικό ξετύλιγμα διπλής έλικας και αποχωρισμός των συμπληρωματικών αλυσίδων.
3. Σύνθεση με το πριμόσωμα πρωταρχικών τμημάτων RNA
4. Επιμήκυνση των πρωταρχικών τμημάτων από τις DNA πολυμεράσες.
5. Απομάκρυνση πρωταρχικών τμημάτων και αντικατάστασή τους από τα κατάλληλα δεοξυριβονουκλεοτίδια με τις DNA πολυμεράσες.
6. Έλεγχος και διόρθωση λαθών από τις DNA πολυμεράσες.
7. Σύνδεση των κομματιών της ασυνεχούς αλυσίδας και των κομματιών από τις διάφορες θέσεις έναρξης της αντιγραφής, από την DNA δεσμάση.
8. Έλεγχος και επιδιόρθωση λαθών από τα επιδιορθωτικά ένζυμα.

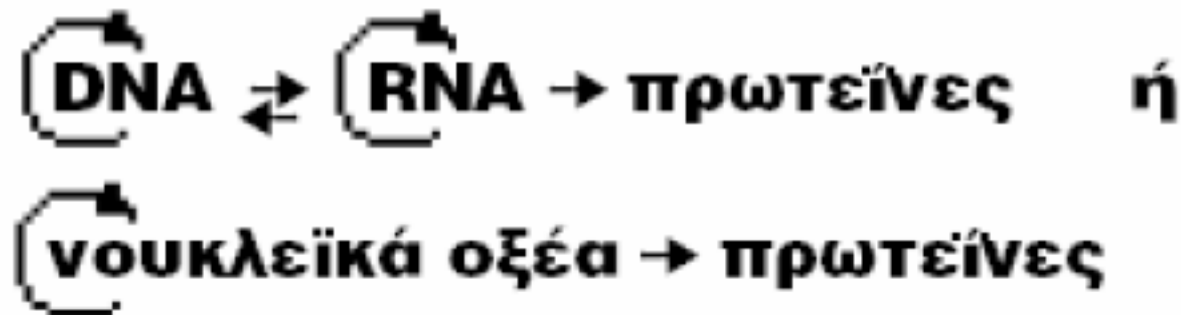
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ: Δημιουργία δύο πανομοιότυπων μορίων DNA που το καθένα έχει μία μητρική και μία νέα αλυσίδα (ημισυντηρητικός τρόπος αντιγραφής).

Περιγράψτε το κεντρικό δόγμα της Βιολογίας



Για αρκετό καιρό οι ερευνητές πίστευαν ότι όλη η ροή της γενετικής πληροφορίας γινόταν προς τη μία μόνο κατεύθυνση, δηλαδή ότι το DNA μεταγραφόταν σε RNA. Σήμερα είναι γνωστό ότι μερικοί ιοί έχουν RNA ως γενετικό υλικό. Ένα ένζυμο που υπάρχει στους ίδιους τους ιούς, η **αντίστροφη μεταγραφή**, χρησιμοποιεί ως καλούπι το RNA, για να συνθέσει DNA. Επιπλέον, σε ορισμένους ιούς το RNA έχει την ικανότητα να αυτοδιπλασιάζεται.

Έτσι σήμερα το κεντρικό δόγμα περιγράφεται ως εξής:



Πόσα είδη RNA υπάρχουν; Τι κάνει
το καθένα;



Υπάρχουν τέσσερα είδη μορίων RNA που παράγονται με τη μεταγραφή : το **αγγελιαφόρο RNA** (mRNA), το **μεταφορικό RNA** (tRNA), το **ριβοσωμικό RNA** (rRNA) και το **μικρό πυρηνικό RNA** (snRNA). Τα τρία πρώτα είδη υπάρχουν και στους προκαρυωτικούς και στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, αλλά το τέταρτο υπάρχει μόνο στους ευκαρυωτικούς

1. Αγγελιαφόρο RNA (mRNA) Τα μόρια αυτά μεταφέρουν την πληροφορία του DNA για την παραγωγή μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας.
2. Ριβοσωμικό RNA (rRNA). Τα μόρια αυτά συνδέονται με πρωτεΐνες και σχηματίζουν το ριβόσωμα, ένα «σωματίδιο» απαραίτητο για την πραγματοποίηση της πρωτεϊνοσύνθεσης.
3. Μεταφορικό RNA (tRNA). Κάθε μεταφορικό RNA συνδέεται με ένα συγκεκριμένο αμινοξύ και το μεταφέρει στη θέση της πρωτεϊνοσύνθεσης.
4. Μικρό πυρηνικό RNA (snRNA).. Είναι μικρά μόρια RNA, τα οποία συνδέονται με πρωτεΐνες και σχηματίζουν μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια. Τα σωματίδια αυτά καταλύουν την «ωρίμανση» του mRNA, μια διαδικασία που, όπως θα αναφερθεί παρακάτω, γίνεται μόνο στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.

Περιγράψτε τη διαδικασία μεταγραφής DNA



Η ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΣΥΝΟΠΤΙΚΑ

ΣΚΟΠΟΣ:

Η μεταφορά της γενετικής πληροφορίας από το DNA στα ριβοσώματα ώστε να εκφραστεί.
Η σύνθεση των t-RNA, sn-RNA και r-RNA που θα συντελέσουν στην έκφραση της γενετικής πληροφορίας και τη σύνθεση των πρωτεϊνών.

ΤΙ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ:

DNA + κατάλληλα ένζυμα + ριβονουκλεοτίδια + ενέργεια.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ:

1. Πρόσδεση της RNA πολυμεράσης σε υποκινητή, με τη βοήθεια μεταγραφικών παραγόντων.
2. Ξετύλιγμα τοπικά της διπλής έλικας του DNA και αποχωρισμός των συμπληρωματικών αλυσίδων.
3. Έναρξη της μεταγραφής από την RNA πολυμεράση (σύνθεση ριβονουκλεοτιδικής αλυσίδας με καλούπι τη μία από τις δύο αλυσίδες του DNA).
4. Επιμήκυνση της ριβονουκλεοτιδικής αλυσίδας.
5. Λήξη μεταγραφής στις αλληλουχίες λήξης.
- 6 Απομάκρυνση του RNA από την αλυσίδα του DNA που χρησιμοποιήθηκε ως καλούπι.
7. Επαναδημιουργία διπλής έλικας.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ: Δημιουργία ενός μορίου RNA:

- t-RNA
- r-RNA
- sn-RNA
- m-RNA

ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΟ
ΚΥΤΤΑΡΟ



ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΟ
ΚΥΤΤΑΡΟ



ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

ΩΡΙΜΑΝΣΗ →

ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

Ποιες οι διαφορές και ομοιότητες
των μηχανισμών αντιγραφής και
μεταγραφής;



ΟΜΟΙΟΤΗΤΕΣ:

1. Εφαρμόζεται η συμπληρωματικότητα των βάσεων
2. Έχουν κατεύθυνση 5'-3'.
3. Ενζυμικές διαδικασίες.
4. Καλούπι DNA.
5. Πολυμερισμός νουκλεοτιδίων.
6. Φωσφοδιεστερικοί δεσμοί 3'-5'.
7. Συνοδεύονται από απόσπαση νερού.

ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ**ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ**

- 1 Όλο το DNA
- 2 Μία φορά στον κυτταρικό κύκλο
- 3 Ξεκινάει από τις θέσεις έναρξης αντιγραφής
- 4 Χρησιμοποιούνται ως καλούπι και οι δύο αλυσίδες του DNA
- 5 Εφαρμογή συμπληρωματικότητας μεταξύ ριβονουκλεοτιδίων-δεοξυριβονουκλεοτιδίων και μεταξύ δεοξυριβονουκλεοτιδίων
- 6 Εξυπηρετεί τη μεταφορά της γενετικής πληροφορίας από κύτταρο σε κύτταρο
- 7 Προϊόν: δύο μόρια DNA
- 8 Το ξετύλιγμα της διπλής έλικας το κάνει η DNA ελικάση
- 9 Κύρια ένζυμα DNA πολυμεράσες
- 10 Συνεχής και ασυνεχής σύνθεση
- 11 Μηχανισμοί επιδιόρθωσης
- 12 Πρωταρχικά τμήματα RNA
- 13 Οι DNA πολυμεράσες δεν μπορούν να ξεκινήσουν τη σύνθεση της θυγατρικής αλυσίδας και μόνο την επιμηκώνουν

- Μέρος του DNA κάθε φορά (γονίδιο)
- Πολλές φορές
- Ξεκινάει από τους υποκινητές
- Χρησιμοποιείται κάθε φορά μόνο η μία από τις δύο αλυσίδες
- Εφαρμογή συμπληρωματικότητας μεταξύ ριβονουκλεοτιδίων - δεοξυριβονουκλεοτιδίων
- Εξυπηρετεί την έκφραση της γενετικής πληροφορίας
- Προϊόν: RNA
- Το ξετύλιγμα της διπλής έλικας το κάνει η RNA πολυμεράση
- Κύρια ένζυμα RNA πολυμεράση /σες
- Συνεχής σύνθεση
- δεν αναφέρονται
- δεν υπάρχουν
- Οι RNA πολυμεράση ξεκινάει και επιμηκώνει η ίδια την νουκλεοτιδική αλυσίδα.

Ποια τα χαρακτηριστικά του
γενετικού κώδικα;



1. Ο γενετικός κώδικας είναι **κώδικας τριπλέτας**, δηλαδή μια τριάδα νουκλεοτιδίων, το **κωδικόνιο**, κωδικοποιεί ένα αμινοξύ.
2. Ο γενετικός κώδικας είναι **συνεχής**, δηλαδή το mRNA διαβάζεται συνεχώς ανά τρία νουκλεοτίδια χωρίς να παραλείπεται κάποιο νουκλεοτίδιο.
3. Ο γενετικός κώδικας είναι **μη επικαλυπτόμενος**, δηλαδή κάθε νουκλεοτίδιο ανήκει σε ένα μόνο κωδικόνιο.
4. Ο γενετικός κώδικας είναι **σχεδόν καθολικός**. 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.
5. Ο γενετικός κώδικας χαρακτηρίζεται ως **εκφυλισμένος**. Με εξαίρεση δύο αμινοξέα (μεθειονίνη και τρυπτοφάνη) τα υπόλοιπα 18 κωδικοποιούνται από δύο μέχρι και έξι διαφορετικά κωδικόνια. Τα κωδικόνια που κωδικοποιούν το ίδιο αμινοξύ ονομάζονται συνώνυμα.
6. Ο γενετικός κώδικας έχει **κωδικόνιο έναρξης** και **κωδικόνια λήξης**. Το κωδικόνιο έναρξης σε όλους τους οργανισμούς είναι το AUG και κωδικοποιεί το αμινοξύ μεθειονίνη. Υπάρχουν τρία κωδικόνια λήξης, τα UAG, UGA και UAA. Η παρουσία των κωδικονίων αυτών στο μόριο του mRNA οδηγεί στον τερματισμό της σύνθεσης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

Ποια είναι η διαδικασία
μετάφρασης;



ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ:

1. Πρόσδεση του m-RNA στην 5' αμετάφραστη περιοχή της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος.
2. Πρόσδεση του t-RNA που έχει το αντικωδικόνιο UAC, και μεταφέρει το αμινοξύ μεθειονίνη, στο m-RNA, στο κωδικόνιο έναρξης.
3. Σύνδεση της μικρής με τη μεγάλη υπομονάδα του ριβοσώματος.
4. Πρόσδεση, στο επόμενο κωδικόνιο του m-RNA, ενός t-RNA που έχει συμπληρωματικό κωδικόνιο και μεταφέρει το δεύτερο αμινοξύ.
5. Δημιουργία πεπτιδικού δεσμού μεταξύ της μεθειονίνης και του δεύτερου αμινοξέος.
6. Απομάκρυνση του t-RNA που μετέφερε τη μεθειονίνη
7. Μετακίνηση του ριβοσώματος πάνω στο m-RNA κατά ένα κωδικόνιο, προς το 3' άκρο.
8. Επανάληψη των βημάτων 4-7 μέχρι κάποιο κωδικόνιο λήξης.
9. Λήξη της επιμήκυνσης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας γιατί δεν υπάρχει t-RNA με συμπληρωματικό αντικωδικόνιο για τα κωδικόνια λήξης.
10. Αποδέσμευση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας από το χώρο σύνθεσης.
11. Αποχωρισμός της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος από τη μεγάλη.
12. Μετά τη λήξη της πρωτεϊνοσύνθεσης, μπορεί να ακολουθήσει απομάκρυνση κάποιων αμινοξέων από το αμινικό άκρο της. Για το λόγο αυτό δεν έχουν όλες οι πρωτεΐνες ως πρώτο αμινοξύ τη μεθειονίνη

α. Μεταγραφόμενος είναι εκείνος ο κλώνος που έχει αλληλουχία νουκλεοτιδίων συμπληρωματική με τα κωδικόνια του mRNA. Το δεύτερο νουκλεοτίδιο του mRNA έχει ως αζωτούχο βάση την ουρακίλη. Άρα η συμπληρωματική από βάση στον μεταγραφόμενο κλώνο πρέπει να είναι αδενίνη. Επειδή ο πρώτος κλώνος έχει σαν δεύτερη βάση την θυμίνη άρα μεταγραφόμενος είναι ο δεύτερος κλώνος.

α. κλώνος DNA	A	T	G	T	G	G	A	A	A	T	G	G	T	A	C	A	G	G	G	G	T	A	C	T	T	A	A
β κλώνος DNA	T	A	C	A	C	C	T	T	T	A	C	C	A	T	G	T	C	C	C	C	A	T	G	A	A	T	T
mRNA	A	U	G	U	G	G	A	A	A	U	G	G	U	A	C	A	G	G	G	G	U	A	C	U	U	A	A
Αμινοξέα	Μεθειονίνη ...έναρξη			Τρυπτοφάνη			Λυσίνη			Τρυπτοφάνη			Τυροσίνη			Αργινίνη			γλυκίνη			θρεονίνη			ΛΗΕΗ		

β. Από το τμήμα αυτό του DNA κωδικοποιούνται 8 αμινοξέα. Το πρωτεϊνικό μόριο από που θα σχηματιστεί μπορεί να έχει τελικά 7 αμινοξέα, αφού το πρώτο αμινοξύ (μεθειονίνη), που κωδικοποιείται από το κωδικόνιο έναρξης AUG, δεν αποτελεί κατ' ανάγκη και αμινοξύ του τελικού πεπτιδίου και αποβάλλεται μετά το τέλος του σχηματισμού του πεπτιδίου.

25. Δίνεται η τμήμα της μη κωδικής αλυσίδας του DNA ενός γονιδίου

5' ...AGGCACGGACATGGGAAACGGGATTTCCAATTTA... 3'

α. Να γραφεί η αλληλουχία των βάσεων του πρόδρομου mRNA που αντιστοιχεί σε αυτό το τμήμα. β. Από τη μετάφραση αυτού του τμήματος προήλθε το ολιγοπεπτίδιο: τρυπτοφάνη - λυσίνη - μεθειονίνη - σερίνη - βαλίνη - προλίνη. Να προσδιορίσετε τα εσώνια και τα εξώνια που υπάρχουν στο παραπάνω τμήμα.

α. Η κωδική αλυσίδα σαν συμπληρωματική της δεδομένης μη κωδικής θα είναι:

3'... TCCGTGCCTGTACCCTTTGCCCTAAAGGTAAAT ...5'

Το πρόδρομο mRNA που θα προέλθει από το παραπάνω τμήμα γονιδίου θα έχει την ίδια ακολουθία βάσεων με την κωδική αντί όμως Τ θα περιέχει U. Για καλύτερη ανάγνωση των κωδικονίων αντιστρέφουμε την γραφή της αλυσίδας ώστε αριστερά να βρίσκεται το 5' άκρο της.

Έχουμε:

5'- ...UAAAUUGGAAAUCCCGUUUGCCAUGUCCGUGCCU...- 3'

β. Αρχίζοντας από το 5' άκρο αναζητούμε με την σειρά διαβάζοντας προς τα δεξιά τα κωδικόνια: UGG που αντιστοιχεί στην τρυπτοφάνη (6η – 8η βάση), AAA της λυσίνης (9η – 11η βάση), AUG που αντιστοιχεί στη μεθειονίνη (21η - 24η βάση) κ. ο. κ. τα υπόλοιπα τρία αμινοξέα από την 25η βάση έως το τέλος.

Άρα το τμήμα περιλαμβάνει δύο εσώνια (1η – 5η βάση: UAAAU και 11η – 20η βάση: UCCCGUUUCCG) και δύο εξώνια (6η- 10η βάση: UGGAAA και 21η βάση έως τέλος: AUGUCCGUGCCU)

30. Δίνεται η αλυσίδα του DNA ενός γονιδίου

TAC GGA TAT...GTA GCA ACA TCACCACTA...CGACAAACT

α. Να γράφει η κωδική της και η αλληλουχία των βάσεων του πρόδρομου mRNA. β. Αν το πεπτίδιο που σχηματίστηκε από τη μετάφραση του «ώριμου» mRNA ήταν: μεθειονίνη-προλίνη-ιστιδίνη-αργινίνη-κυστεΐνη-σερίνη-βαλίνη, να βρεις την αλληλουχία των βάσεων του εσωνίου που βρίσκεται στο γονίδιο. γ. Να γραφεί η αλληλουχία των βάσεων του ώριμου mRNA. δ. Πόσοι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί δημιουργούνται κατά τη συρραφή των εξωνίων μεταξύ τους;

α. κωδική

ATG CCT ATA...CAT CGT TGT AGT GGT GAT...GCTGTTTGA

πρόδρομο mRNA

AUG CCU AUA...CAUCGU UGU AGU GGU GAU...GCU GUU UGA

β. AUG CCU CAU CGU UGU AGU GUU

γ. AUG CCU CAU CGU UGU AGU GUU UGA

δ. έχουμε 3 εξώνια άρα δυο φωσφοδιεστερικούς δεσμούς

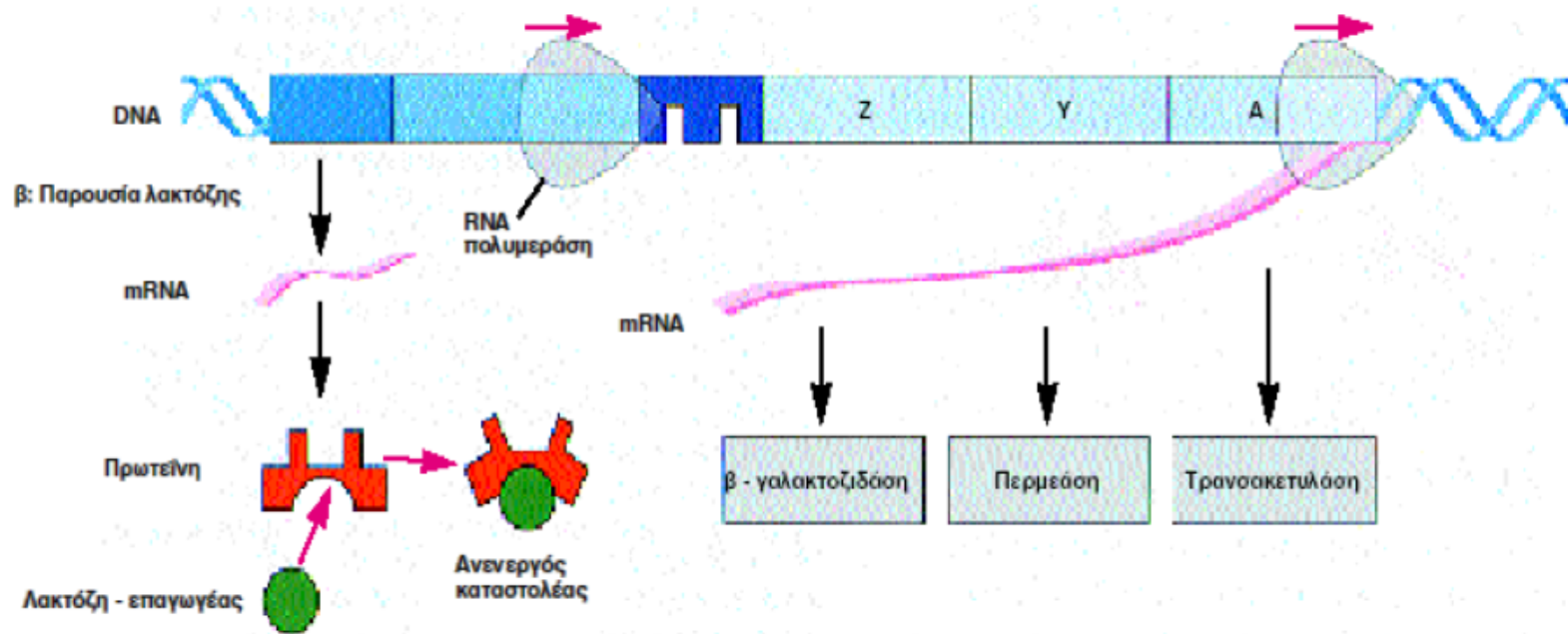
Η γονιδιακή ρύθμιση στους προκαρυωτικούς οργανισμούς

Οι μηχανισμοί με τους οποίους ένα κύτταρο «ξυπνά» ένα «κοιμισμένο» γονίδιο είναι οι πιο σημαντικοί και πολύπλοκοι της Μοριακής Βιολογίας. Οι αρχικές μελέτες της ρύθμισης των γονιδίων έγιναν από τους Jacob και Monod, το 1961. Οι ερευνητές περιέγραψαν την ικανότητα του βακτηρίου *E. coli* να παραγάγει τα τρία απαραίτητα ένζυμα που χρειάζεται, για να μεταβολίσει το δισακχαρίτη λακτόζη, όταν δεν υπάρχει άλλη πηγή άνθρακα στην τροφή του. Οι Jacob και Monod 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 κωδικόνια 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.

Στο γονιδίωμα των προκαρυωτικών οργανισμών τα γονίδια των ενζύμων που παίρνουν μέρος σε μια μεταβολική οδό, όπως η διάσπαση της λακτόζης, ή η βιοσύνθεση διάφορων αμινοξέων, οργανώνονται σε οπερόνια, δηλαδή σε ομάδες που υπόκεινται σε κοινό έλεγχο της έκφρασής τους.



Η γονιδιακή ρύθμιση στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα η γονιδιακή έκφραση ρυθμίζεται σε τέσσερα επίπεδα:

- **Στο επίπεδο της μεταγραφής.** Ένας αριθμός μηχανισμών ελέγχουν ποιά γονίδια θα μεταγραφούν ή/και με ποια ταχύτητα θα γίνει η μεταγραφή. Το DNA των ευκαρυωτικών κυττάρων δεν οργανώνεται σε οπερόνια αλλά κάθε γονίδιο έχει το δικό του υποκινητή και μεταγράφεται αυτόνομα. Η RNA πολυμεράση λειτουργεί (όπως και στους προκαρυωτικούς οργανισμούς) με τη βοήθεια πρωτεϊνών, που ονομάζονται μεταγραφικοί παράγοντες. 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 τη μεταγραφή ενός γονιδίου.
- **Στο επίπεδο μετά τη μεταγραφή.** Περιλαμβάνονται οι μηχανισμοί με τους οποίους γίνεται η ωρίμανση του πρόδρομου mRNA και επίσης η ταχύτητα με την οποία το ώριμο mRNA αφήνει τον πυρήνα και εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα.

- **Στο επίπεδο της μετάφρασης.** Ο χρόνος που «ζουν» τα μόρια mRNA στο κυτταρόπλασμα δεν είναι ο ίδιος για όλα τα είδη RNA, επειδή μετά από κάποιο χρονικό διάστημα αποικοδομούνται. Επίσης, ποικίλλει και η ικανότητα πρόσδεσης του mRNA στα ριβοσώματα.
- **Στο επίπεδο μετά τη μετάφραση.** Ακόμη και όταν γίνει η πρωτεϊνοσύνθεση και παραχθεί η κατάλληλη πρωτεΐνη, μπορεί να πρέπει να υποστεί τροποποιήσεις, για να γίνει βιολογικά λειτουργική.

ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΕΝΝΟΙΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ Γ ΛΥΚΕΙΟΥ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ

Κεφάλαιο Τέταρτο
Ενότητα: Τεχνολογία
ανασυνδυασμένου DNA

Τι ονομάζεται ανασυνδυασμένο DNA;



Aπό το 1953 που οι Watson και Crick πρότειναν το μοντέλο της τρισδιάστατης δομής του DNA μέχρι σήμερα η πρόοδος της επιστήμης της Βιολογίας ήταν αλματώδης. Η απομόνωση και χρήση πολυάριθμων ενζύμων, έδωσε στους ερευνητές τη δυνατότητα “αναπαραγωγής” των διαδικασιών της αντιγραφής, αντίστροφης μεταγραφής, μεταγραφής και μετάφρασης *in vitro*. Ειδικότερα η απομόνωση των περιοριστικών ενδονουκλεασών, ενζύμων που κόβουν το DNA σε κομμάτια με συγκεκριμένη αλληλουχία βάσεων, καθώς και ειδικών φορέων που μεταφέρουν DNA από κύτταρο σε κύτταρο, επέτρεψε την ανάπτυξη της **τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA** και έδωσε στον άνθρωπο την ικανότητα, όχι μόνο να ερευνά, αλλά να επεμβαίνει και να τροποποιεί το γενετικό υλικό των οργανισμών. Η τεχνολογία αυτή βρίσκει εφαρμογή στην παραγωγή σειράς προϊόντων και τη δημιουργία φυτών και ζώων με «βελτιωμένες» ιδιότητες. Με την ανάπτυξη της υψηλής αυτής τεχνολογίας, το γενετικό υλικό, το DNA, που ήταν τόσο δύσκολο να μελετηθεί, έγινε «παιχνίδι» στα ανθρώπινα χέρια.



Τι είναι η Γενετική Μηχανική και
ποιους στόχους εξυπηρετεί;



Οι τεχνικές με τις οποίες ο άνθρωπος επεμβαίνει στο γενετικό υλικό, αποτελούν την **Γενετική Μηχανική**. Η Γενετική Μηχανική άνοιξε τον δρόμο για νέες, εξαιρετικά ενδιαφέρουσες ερευνητικές και παραγωγικές δυνατότητες, αλλά και για την επίτευξη δύο θεμελιωδών στόχων του ανθρώπου:

α. την κατανόηση των μυστηρίων της ζωής και της εξέλιξης πάνω στη γη και,

β. τη βελτίωση της υγείας και των τρόπου διαβίωσης του. Η βελτίωση αυτή επιτυγχάνεται με τις εφαρμογές της Γενετικής Μηχανικής τόσο στην Ιατρική όσο και στην Γεωργία και την Κτηνοτροφία

Ποιοι λόγοι επέτρεψαν την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA και ποιες είναι οι εφαρμογές της τεχνολογίας αυτής;

- Απομόνωση των περιοριστικών ενδονουκλεασών, που έχουν την ικανότητα να κόβουν το DNA σε συγκεκριμένες αλληλουχίες βάσεων.
- Η ανακάλυψη ειδικών φορέων που μεταφέρουν DNA από το ένα κύτταρο στο άλλο, όπως είναι τα πλασμίδια, DNA φάγων κ.λ.π
- Εφαρμογές: Στη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων οργανισμών με βελτιωμένες ιδιότητες, στη μελέτη του γενετικού υλικού και στην παραγωγή πρωτεϊνών και άλλων ουσιών.

Με ποιο τρόπο γίνεται εργαστηριακά η μεταφορά γενετικού υλικού από έναν οργανισμό σε έναν άλλον; Να αναφέρετε συνοπτικά τα στάδια αυτής της διαδικασίας

[BİNTEO](#)



Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA περιλαμβάνει όλες τις τεχνικές που οδηγούν σε μεταφορά του γενετικού υλικού από τον ένα οργανισμό στον άλλο. Τα στάδια της διαδικασίας αυτής είναι

- ✓ **Η κατασκευή του ανασυνδυασμένου DNA.** Για το σκοπό αυτό το ολικό DNA από έναν οργανισμό δότη απομονώνεται, κόβεται ενζυματικά με ειδικά ένζυμα, τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες, και ενώνεται με ένα φορέα κλωνοποίησης. **Ο φορέας κλωνοποίησης**, είναι ένα μόριο DNA, π.χ πλασμίδιο ή DNA φάγων, το οποίο μπορεί να αυτοδιπλασιάζεται ανεξάρτητα μέσα σε ένα **κύτταρο-ξενιστή** όπως ένα βακτήριο. Το DNA που δημιουργείται είναι ανασυνδυασμένο.
- ✓ **Η μεταφορά του ανασυνδυασμένου μορίου DNA σε ένα κύτταρο-ξενιστή.** Η εισαγωγή του DNA σε βακτηριακό κύτταρο-ξενιστή ονομάζεται **μετασχηματισμός**.

✓ **Η επιλογή και απομόνωση των κυττάρων ξενιστών.** Στο στάδιο αυτό τα κύτταρα ξενιστές που έχουν προσλάβει το ανασυνδυασμένο DNA απομονώνονται από εκείνα που δεν το έχουν προσλάβει. Κάθε βακτήριο που προσλαμβάνει ένα μόνο μόριο ανασυνδυασμένου DNA πολλαπλασιάζεται και παράγει μια αποικία που αποτελεί ένα βακτηριακό **κλώνο**. Είναι φανερό ότι με την παραπάνω διαδικασία παράγονται χιλιάδες κλώνοι, που ο καθένας περιέχει ένα ανασυνδυασμένο μόριο DNA διαφορετικό από τους υπόλοιπους κλώνους

- ✓ **Η επιλογή ενός βακτηριακού κλώνου που περιέχει το επιθυμητό τμήμα DNA.** Αυτή πραγματοποιείται με τη βοήθεια ειδικών μορίων ανιχνευτών.

Τι είναι περιοριστικές ενδονουκλεάσες
και ποιος ο ρόλος τους;

[BİNTEO](#)



Η ανακάλυψη των περιοριστικών ενδονουκλεασών έθεσε το θεμέλιο για τη δημιουργία των γονιδιωματικών βιβλιοθηκών. Οι **περιοριστικές ενδονουκλεύσες** παράγονται από βακτήρια και ο φυσιολογικός τους ρόλος είναι να τα προστατεύουν από την εισβολή «ξένου» DNA. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες αναγνωρίζουν ειδικές αλληλουχίες δίκλωνου DNA, μήκους 4-8 νουκλεοτιδίων. Μία από τις περιοριστικές ενδοκλεάσες που χρησιμοποιείται ευρέως είναι η EcoRI που απομονώθηκε από το βακτήριο *Escherichia coli*. Το ένζυμο αυτό όποτε συναντά την αλληλουχία:



στο γονιδίωμα, κόβει κάθε αλυσίδα μεταξύ του G και του A (με κατεύθυνση 5' → 3') αφήνοντας μονόκλινα 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 ένζυμο. Η αλληλουχία GAATTC υπάρχει διάσπαρτη στα γονιδιώματα των οργανισμών. Έτσι το γονιδίωμα ενός ανώτερου ευκαρυωτικού οργανισμού μπορεί να κοπεί σε χιλιάδες κομμάτια με την περιοριστική αυτή ενδονουκλεάση.

Στη συνέχεια τα κομμάτια αυτά ενσωματώνονται σε ειδικούς φορείς. Οι πιο χαρακτηριστικοί τύποι φορέων είναι τα πλασμίδια, και το DNA φάγων. Τα πλασμίδια που χρησιμοποιούνται ως φορείς κλωνοποίησης έχουν την συγκεκριμένη αλληλουχία **μια μόνο φορά**. Έτσι τα πλασμίδια κόβονται από την EcoRI σε αυτή τη θέση και δημιουργείται ένα γραμμικό μόριο DNA με μονοκλώνα άκρα. Τα δύο είδη DNA, του πλασμιδίου και του οργανισμού αναμιγνύονται, και επειδή έχουν συμπληρωματικά άκρα, ενώνονται μεταξύ τους με τη μεσολάβηση ενός ενζύμου, της **DNA δεσμάσης**. (Η DNA δεσμάση φυσιολογικό είναι ένα από τα ένζυμα της αντιγραφής που συνδέει κομμάτια του DNA) και δημιουργούνται ανασυνδυασμένα πλασμίδια. Μερικά πλασμίδια ξαναγίνονται κυκλικά χωρίς να προσλάβουν DNA του οργανισμού.

Τι εννοούμε με τον όρο
κλωνοποίηση και τον όρο κλώνος;



Η επιλογή των βακτηρίων που δέχθηκαν ανασυνδυασμένο πλασμίδιο στηρίζεται στην ικανότητα ανάπτυξης τους παρουσία αντιβιοτικού, επειδή το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο περιέχει ένα γονίδιο που τους προσδίδει ανθεκτικότητα στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό. Κάθε βακτήριο που προσέλαβε ένα ανασυνδυασμένο πλασμίδιο πολλαπλασιάζεται και δίνει ένα κλώνο. Η διαδικασία δημιουργίας κλώνων βακτηρίων ονομάζεται **κλωνοποίηση**.

Κλώνος : Ομάδα πανομοιότυπων μορίων, κυττάρων ή οργανισμών. Κλωνοποίηση εννοούμε την κατασκευή μεγάλου αριθμού πανομοιότυπων μορίων, κυττάρων ή οργανισμών

Τι είναι φορέας κλωνοποίησης και
ποια χαρακτηριστικά πρέπει να
διαθέτει;



Ο φορέας κλωνοποίησης είναι γενετικό υλικό, κυρίως DNA βακτηριοφάγων ή πλασμίδιο, το οποίο χρησιμοποιείται για να μεταφέρει DNA από ένα κύτταρο – δότη σε ένα κύτταρο – δέκτη με σκοπό την κλωνοποίηση γονιδίων.

Τα χαρακτηριστικά που πρέπει να συγκεντρώνει ένα DNA για να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως φορέας κλωνοποίησης είναι:

→ ικανότητα αυτοδιπλασιασμού ανεξάρτητα από το υπόλοιπο κύτταρο.

→ συγκεκριμένη αλληλουχία αναγνωρίσιμη από την περιοριστική ενδονουκλεάση

→ ικανότητα εισαγωγής του ανασυνδυασμένου DNA στο κύτταρο.

→ εάν είναι πλασμίδιο, να έχει γονίδιο ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά.

Τι ονομάζουμε DNA βιβλιοθήκη;



Ονομάζεται η συλλογή κλωνοποιημένων τμημάτων DNA που είτε αντιπροσωπεύουν ολόκληρο το γονιδίωμα ενός οργανισμού και χαρακτηρίζεται ως γονιδιωματική βιβλιοθήκη είτε αντιπροσωπεύουν DNA αντίγραφα του ολικού mRNA που παράγεται από ένα κύτταρο ή ιστό και χαρακτηρίζεται ως cDNA βιβλιοθήκη.

Τι είναι η γονιδιωματική βιβλιοθήκη
και με ποιον τρόπο γίνεται η
παραγωγή της;



Γονιδιωματική βιβλιοθήκη είναι ένα σύνολο από κλώνους βακτηρίων που περιέχουν τμήματα DNA, τα οποία στο σύνολό τους αποτελούν την ολική ποσότητα του γονιδιώματος ενός οργανισμού. Για την κατασκευή μιας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης ακολουθούμε την εξής πορεία:

[BİNTEO](#)



ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗΣ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ

1. Κόψιμο, με μία περιοριστική ενδονουκλεάση, του γονιδιώματος ενός ευκαρυωτικού οργανισμού.
2. Επιλογή πλασμιδίων (φορέων κλωνοποίησης).
 - α. Γονίδιο ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό
 - β. Μία φορά η αλληλουχία που αναγνωρίζεται από την περιοριστική ενδονουκλεάση που θα χρησιμοποιηθεί.
3. Άνοιγμα των πλασμιδίων με τη χρήση της ίδιας περιοριστικής ενδονουκλεάσης, που χρησιμοποιήθηκε και για τον τεμαχισμό του γονιδιώματος του ευκαρυωτικού κυττάρου.
4. Ανάμειξη των δύο DNA (αυτού του ευκαρυωτικού οργανισμού με τα πλασμίδια).
5. Δημιουργία ανασυνδυασμένων πλασμιδίων με τη βοήθεια του ενζύμου DNA δεσμάση.
6. Επιλογή βακτηρίων που δεν διαθέτουν πλασμίδιο.
7. Επεξεργασία βακτηρίων, ώστε τα τοιχώματά τους να γίνουν παροδικά διαπερατά και να διευκολυνθεί έτσι η είσοδος των πλασμιδίων.
8. Εισαγωγή των ανασυνδυασμένων πλασμιδίων στα βακτήρια (μετασχηματισμός).
9. Επιλογή βακτηρίων που έχουν ενσωματώσει ανασυνδυασμένο πλασμίδιο, με χρήση αντιβιοτικού.
10. Κλωνοποίηση επιλεγμένων βακτηρίων.

Το σύνολο των βακτηριακών κλώνων που θα δημιουργηθούν αποτελεί τη γονιδιωματική βιβλιοθήκη.

ΑΣΚΗΣΗ 1

Με την επίδραση της EcoR I, μιας περιοριστικής ενδονουκλεάσης, ένα γραμμικό μόριο DNA κόπηκε σε εικοσιπέντε τμήματα.

A) Σε πόσα σημεία υπάρχει η κατάλληλη αλληλουχία για τη δράση της EcoR I στο μόριο του DNA;

B) Πόσων δεσμών τη διάσπαση προκάλεσε η δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης;

Γ) Πόσα πλασμίδια χρειάζονται τουλάχιστον για την κατασκευή γονιδιωματικής βιβλιοθήκης από το συγκεκριμένο μόριο DNA;

ΑΣΚΗΣΗ 2

Ένα δίκλωνο γραμμικό τμήμα DNA έχει μήκος (ΑΒ) = 40kb. Με την επίδραση της EcoR I κόβεται σε δύο κομμάτια μήκους (ΑΓ) = 18kb και (ΓΒ) = 22kb. Με την επίδραση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης Hind III κόβεται σε τρία κομμάτια μήκους (ΑΔ) = 7 kb, (ΔΕ) = 18kb και (ΕΒ) = 15kb.

Αν επιδράσουν και τα δύο ένζυμα μαζί στο ίδιο μόριο DNA, τι μήκος θα έχουν τα τμήματα που θα προκύψουν; Δίνεται ότι $1 \text{ kb} = 10^3$ ζεύγη βάσεων.

ΑΣΚΗΣΗ 3

Διαθέτουμε ένα δίκλωνο γραμμικό μόριο DNA σε πολλά αντίγραφα. Με τη χρήση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης EcoR I, το μόριο του DNA κόβεται σε τρία κομμάτια μήκους 17 kb, 20kb, 11 kb αντίστοιχα, ενώ με τη χρήση της ενδονουκλεάσης Bam HI κόβεται σε 2 κομμάτια μήκους 28 kb και 20kb αντίστοιχα.

Σε πόσα σημεία του μορίου DNA επιδρά η κάθε περιοριστική ενδονουκλεάση; Πόσα θα είναι και τι μήκος θα έχουν τα κομμάτια της δράσης στο μόριο του DNA συγχρόνως της EcoR I και της Bam HI



Τι είναι η cDNA βιβλιοθήκη και με
ποιον τρόπο γίνεται η παραγωγή της;



Η cDNA βιβλιοθήκη είναι ένα σύνολο από βακτηριακούς κλώνους που περιέχουν αντίγραφα DNA, τα οποία προέρχονται από τα μόρια mRNA όλων των γονιδίων που εκφράζονται σε συγκεκριμένα κύτταρα ενός ιστού.

Για να κατασκευαστεί μια cDNA βιβλιοθήκη ακολουθείται η εξής πορεία:

ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ cDNA ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ

Για να κατασκευαστεί μία **cDNA** βιβλιοθήκη,

1. απομονώνεται το ολικό mRNA από κύτταρα που εκφράζουν το συγκεκριμένο γονίδιο.
2. Το mRNA χρησιμοποιείται σαν καλούπι για την σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλυσίδας **DNA**. Η σύνθεση του **cDNA** γίνεται από το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφή.
3. Παράγονται υβριδικά μόρια **cDNA** - mRNA.
4. Το mRNA διασπάται με κατάλληλες χημικές ουσίες ή αποδιατάσσεται με θέρμανση.
5. τα **cDNA** χρησιμεύουν σαν καλούπι για την σύνθεση μια συμπληρωματικής αλυσίδας **DNA** και το αποτέλεσμα είναι η δημιουργία δίκλωνων μορίων **DNA**.
6. Τα δίκλινα μόρια **DNA** εισάγονται σε πλασμίδια ή βακτηριοφάγους και κλωνοποιούνται με την διαδικασία που αναφέρθηκε προηγουμένως.

Με αυτό τον τρόπο δίνουν την δυνατότητα σύνθεσης της πρωτεΐνης ενός συγκεκριμένου γονιδίου στο κύτταρο ξενιστή.

Ποιες οι διαφορές γονιδιωματικής
βιβλιοθήκης και cDNA βιβλιοθήκης;



Γονιδιωματική βιβλιοθήκη	cDNA βιβλιοθήκη
Σύνολο βακτηριακών κλώνων που αντιπροσωπεύει, ολόκληρο το γονιδίωμα ενός οργανισμού - δότη.	Σύνολο βακτηριακών κλώνων που περιέχει αντίγραφα DNA του ολικού mRNA που παράγεται από ένα κύτταρο ή ιστό.
Αποτελείται, από μεγάλο αριθμό βακτηριακών κλώνων, διότι περιέχει το συνολικό γονιδίωμα.	Αποτελείται από μικρότερο αριθμό βακτηριακών κλώνων, διότι περιέχει αντίγραφα DNA των γονιδίων που εκφράζονται σε ορισμένο ιστό
Κάθε βακτηριακός κλώνος περιέχει κάποιο (τυχαίο) τμήμα του γονιδιώματος του κυττάρου δότη	Κάθε βακτηριακός κλώνος περιέχει αντίγραφο κάποιου γονιδίου που εκφράζεται στο κύτταρο δότη
Μπορούν να χρησιμοποιηθούν οποιαδήποτε κύτταρα ενός οργανισμού, αρκεί να έχουν πυρήνα	Χρησιμοποιούνται κύτταρα στα οποία εκφράζεται το επιθυμητό γονίδιο
Χρησιμοποιείται το συνολικό DNA του κυττάρου	Χρησιμοποιείται το κυτταροπλασματικό m-RNA του κυττάρου δότη
Στόχος είναι η μελέτη του γονιδιώματος και η απομόνωση γονιδίων, υποκινητών κ.λπ.	Στόχος είναι, η μελέτη των εξωνίων των γονιδίων, η παραγωγή πρωτεϊνών σε προκαρυωτικά κύτταρα κ.λπ.
Είναι μία για κάθε είδος και <i>ανάλογο</i> , με την περιοριστική ενδονουκλεάση που χρησιμοποιούμε	Υπάρχουν πολλές, <i>ανάλογα</i> με το είδος του ιστού και το στάδιο της ανάπτυξης που επιλέγουμε



<p>Στην κατασκευή της δεν χρησιμοποιείται το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση. Το DNA του οργανισμού - δότη κόβεται με περιοριστική ενδονουκλεάση σε τμήματα όπου συναντά συγκεκριμένη αλληλουχία νουκλεοτιδίων.</p>	<p>Στην κατασκευή της χρησιμοποιείται το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση. Το DNA που σχηματίζει επιμηκύνεται στα άκρα με ειδική αλληλουχία που αναγνωρίζει και κόβει η περιοριστική ενδονουκλεάση.</p>
<p>Περιέχει τμήματα του γονιδιώματος ποικίλου μεγέθους που μπορούν να αποτελούνται από τμήματα γονιδίων, υποκινητές, γονίδια, ρυθμιστικές περιοχές κ.λπ.</p>	<p>Περιέχουν αντίγραφα των mRNA όλων των γονιδίων που εκφράζονται στα συγκεκριμένα κύτταρα.</p>
<p>Η γονιδιωματική βιβλιοθήκη ευκαρυωτικού οργανισμού δεν δίνει τη δυνατότητα παραγωγής πρωτεϊνών</p>	<p>Η cDNA βιβλιοθήκη δίνει τη δυνατότητα παραγωγής πρωτεϊνών σε βακτήρια.</p>
<p>Τα γονίδια που επιλέγονται από μία γονιδιωματική βιβλιοθήκη, δεν μπορούν κατά κανόνα να εκφραστούν άμεσα από ένα βακτηριακό κύτταρο και να μας δώσουν λειτουργικό προϊόν, λόγω των εσωνίων που περιέχουν</p>	<p>Τα γονίδια μπορούν άμεσα να εκφραστούν από ένα βακτηριακό κύτταρο γιατί δεν περιέχουν εσώνια. Το προϊόν βέβαια που θα παραχθεί μπορεί να μην είναι λειτουργικό και να χρειάζεται τροποποίηση.</p>
<p>Ακόμα και στην περίπτωση που ένας βακτηριακός κλώνος, έχει ένα γονίδιο του οργανισμού δότη, αυτό (αν είναι ασυνεχές) θα περιέχει εσώνια και εξώνια</p>	<p>Οι βακτηριακοί κλώνοι περιέχουν αντίγραφα γονιδίων (ακόμα και των ασυνεχών) χωρίς τα εσώνια</p>



Γιατί κατασκευάζουμε και
χρησιμοποιούμε μια cDNA βιβλιοθήκη



Η κατασκευή και η χρήση μιας cDNA βιβλιοθήκης έχει το πλεονέκτημα της απομόνωσης μόνο των αλληλουχιών των γονιδίων που μεταφράζονται σε αμινοξέα. Στους ανώτερους οργανισμούς, σε κάθε τύπο κυττάρων μεταγράφονται ορισμένα μόνο γονίδια (διαφοροποίηση). Για να κλωνοποιήσουμε ένα γονίδιο και να εκφραστεί στο βακτήριο *E. coli*, έχουμε να αντιμετωπίσουμε το πρόβλημα που προκύπτει από το γεγονός ότι τα περισσότερα γονίδια των ευκαρυωτικών οργανισμών είναι ασυνεχή, δηλαδή αποτελούνται από εσώνια και εξώνια. Αυτά δεν μπορούν να εκφραστούν στα βακτήρια, γιατί τα βακτήρια δεν διαθέτουν μηχανισμό απομάκρυνσης των εσωνίων από το πρόδρομο μόριο του mRNA.

Η δυσκολία παρακάμπτεται με τη δημιουργία cDNA βιβλιοθηκών, δηλαδή με το να εισάγουμε στα βακτήρια DNA συμπληρωματικό του ώριμου mRNA του γονιδίου που θέλουμε να κλωνοποιήσουμε. Με αυτό τον τρόπο έχουμε το πλεονέκτημα απομόνωσης μόνο των αλληλουχιών εκείνων που μεταφράζονται σε αμινοξέα (εξώνια), με τη βοήθεια αντίστροφης μεταγραφάσης.

Τι είναι αποδιάταξη DNA και τι η
υβριδοποίηση;



Αν επιδράσουμε στο απομονωμένο DNA in vitro με κατάλληλες χημικές ουσίες (π.χ ουρία) ή αυξήσουμε τη θερμοκρασία του, τότε σπάζουν οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των 2 συμπληρωματικών αλυσίδων του και αποχωρίζονται η μια από την άλλη. Η διαδικασία αυτή λέγεται **αποδιάταξη του DNA.**

Η υβριδοποίηση είναι η σύνδεση μονόκλωνων συμπληρωματικών αλυσίδων DNA ή συμπληρωματικών DNA – RNA. Δύο μονόκλωνες συμπληρωματικές αλυσίδες σε κατάλληλες συνθήκες μπορούν να συνδεθούν μεταξύ τους σχηματίζοντας, για παράδειγμα, δίκλινα μόρια DNA. Η υβριδοποίηση είναι πολύ σημαντική «ιδιότητα» του DNA, γιατί μας παρέχει δυνατότητα χρησιμοποίησης ενός γνωστού μορίου DNA (αφού το **σημάνουμε**) ως μόριο ανιχνευτή για τον εντοπισμό του συμπληρωματικού του, όταν το τελευταίο βρίσκεται μαζί με χιλιάδες άλλα κομμάτια.

Με ποιόν τρόπο γίνεται η ανίχνευση
κλώνων γονιδιωματικής ή cDNA
βιβλιοθήκης;



Μια βιβλιοθήκη περιέχει μεγάλο αριθμό κλωνοποιημένων κομματιών DNA, τα οποία έχουν προκύψει με τη δράση κάποιας περιοριστικής ενδονουκλεάσης. Τα κομμάτια αυτά μπορεί να είναι ολόκληρα γονίδια, μέρος γονιδίων ή και τμήματα DNA που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Ο εντοπισμός του κομματιού που θέλουμε γίνεται με χρήση *ιχνηθετημένων ανιχνευτών μορίων DNA ή RNA* που περιέχουν αλληλουχίες συμπληρωματικές προς το κλωνοποιημένο DNA. Οι ανιχνευτές αναμιγνύονται με το DNA της βιβλιοθήκης, το οποίο έχει αποδιαταχθεί, και υβριδοποιούν μόνο το συμπληρωματικό τους DNA και έτσι απομονώνεται ένα συγκεκριμένο γονίδιο.

Με ποιον τρόπο μπορούμε να έχουμε επιλεκτικά πολλαπλασιασμό αλληλουχιών DNA; Τι είναι η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR);

Για να αντιγράψουμε επιλεκτικά, εκατομμύρια φορές, ειδικές αλληλουχίες DNA από ένα σύνθετο μίγμα μορίων DNA (in vitro), χρησιμοποιούμε την τεχνική PCR. Αυτή χρησιμοποιείται κυρίως για τη διάγνωση γενετικών ασθενειών, τη διάγνωση επίκτητων ασθενειών (π.χ AIDS), στην εγκληματολογία για διαλεύκανση υποθέσεων, για μελέτη DNA από απολιθώματα.

Η τεχνική PCR συνοψίζεται στα εξής:

Τοποθετούμε το δίκλωνο DNA, που περιέχει το τμήμα που θέλουμε, σε δοκιμαστικό σωλήνα ως διάλυμα μαζί με συγκεκριμένης αλληλουχίας ολιγονουκλεοτίδια, ελεύθερα δεοξυριβονουκλεοτίδια, DNA πολυμεράση και ιχνοστοιχεία. Τα ολιγονουκλεοτίδια είναι συμπληρωματικά με τα άκρα του τμήματος που θέλουμε επιλεκτικά να πολλαπλασιάσουμε και λειτουργούν ως πρωταρχικά τμήματα για τη σύνθεση συμπληρωματικών αλυσίδων DNA. Η DNA πολυμεράση που είναι ανθεκτική σε υψηλές θερμοκρασίες καταλύει τη σύνθεση του DNA. Τα ιχνοστοιχεία (πχ Mg) είναι απαραίτητα στη δράση του ενζύμου.

Θερμαίνουμε το διάλυμα για να αποδιαταχθεί το DNA και μετά ελαττώνουμε τη θερμοκρασία. Τα ολιγονουκλεοτίδια συνδέονται στις συμπληρωματικές περιοχές του DNA σε κάθε αλυσίδα. Η DNA πολυμεράση επιμηκύνει τα 3' άκρα των ολιγονουκλεοτιδίων συνθέτοντας τη συμπληρωματική αλυσίδα. Θερμαίνοντας ξανά το DNA, οπότε έχουμε αποδιάταξη των δίκλωνων μορίων DNA που μόλις έχουν συντεθεί. Με ελάττωση της θερμοκρασίας αρχίζει ένας νέος κύκλος αντιγραφής. Αυτός ο κύκλος σύνθεσης και αποδιάταξης επαναλαμβάνεται πολλές φορές (περίπου 30 - 40) και έτσι έχουμε πολλά αντίγραφα από το κομμάτι DNA. ([BΙΝΤΕΟ](#))

Η μέθοδος PCR επιτρέπει τη γρήγορη ανάλυση ειδικών περιοχών DNA που βρίσκονται σε μικρή ποσότητα. Έχει χρησιμοποιηθεί για να πολλαπλασιαστεί DNA από μαμούθ ηλικίας 40.000 χρόνων, για ανίχνευση γενετικών ασθενειών, στην εγκληματολογία, στην εξακρίβωση πατρότητας κ.α

Τι είναι τα αποτυπώματα DNA;



Το γενετικό υλικό (αλληλουχία DNA) είναι διαφορετικό από οργανισμό σε οργανισμό, εκτός από τους μονοζυγωτικούς διδύμους, και διαφέρει είτε μέσα στα γονίδια είτε σε άλλες περιοχές. Γι' αυτό, αν κοπεί με περιοριστικές ενδονουκλεάσες, δημιουργείται διαφορετικός αριθμός κομματιών μεταξύ των ατόμων. Ο αριθμός και το μέγεθος των κομματιών του DNA είναι χαρακτηριστικός για κάθε άτομο και αποτελεί τη μοριακή ταυτότητά του. Η μέθοδος χρησιμοποιείται για την πιστοποίηση της πατρότητας, αλλά και από διωκτικές αρχές για την αναγνώριση υπόπτων.

[BΙΝΤΕΟ](#)

ΛΥΣΕΙΣ ΣΧΟΛΙΚΟΥ ΒΙΒΛΙΟΥ



1. Γιατί οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες και οι φορείς κλωνοποίησης είναι απαραίτητα εργαλεία για τη Γενετική Μηχανική;

- Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες είναι ένζυμα που παράγονται από βακτήρια. Διασπών τους φωσφοδιεστερικούς δεσμούς στο εσωτερικό του μορίου και είναι τα απαραίτητα εργαλεία για τη Γενετική Μηχανική, επειδή αναγνωρίζουν και κόβουν τις ίδιες πάντα ειδικές αλληλουχίες του δι-κλωνου DNA, αφήνοντας μονόκλωνες ουρές από αζευγάρωτα νουκλεοτίδια στα κομμένα άκρα. (Υπάρχουν ορισμένες περιοριστικές ενδονουκλεάσες, που κόβουν το DNA χωρίς να δημιουργούν μονόκλωνες ουρές). Τα άκρα αυτά μπορούν να σχηματίσουν υδρογονικούς δεσμούς με τις συμπληρωματικές βάσεις του φορέα κλωνοποίησης που έχει κοπεί με το ίδιο ένζυμο. Τα δύο είδη DNA μπορεί να αναμειχθούν, και επειδή έχουν συμπληρωματικά άκρα, ενώνονται μεταξύ τους με τη μεσολάβηση της DNA δεσμάσης. Έτσι, δημιουργούνται ανασυνδυασμένα μόρια DNA.
- Οι φορείς κλωνοποίησης είναι απαραίτητα εργαλεία για τη Γενετική Μηχανική, επειδή είναι μόρια αυτόνομα, που μπορούν να αναπαράγονται ανεξάρτητα. Οι φορείς κλωνοποίησης είναι μόρια DNA όπως πλασμίδια, DNA φάγων, που μπορούν να αυτόδιπλασιάζονται μέσα σε ένα κύτταρο ξενιστή όπως ένα βακτήριο. Το DNA απομονώνεται από έναν οργανισμό-δότη, κόβεται ενζυματικά με τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες, ενώνεται με το φορέα κλωνοποίησης και δημιουργείται ένα ανασυνδυασμένο μόριο DNA

2. Τι είναι μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη;
- α. ένα κλώνος βακτηρίων που περιέχει ένα τμήμα DNA ενός οργανισμού
 - β. μια συλλογή βιβλίων για κλώνους
 - γ. ένα σύνολο από κλώνους βακτηρίων που ο καθένας έχει ένα πλασμίδιο με διαφορετικό τμήμα DNA ενός οργανισμού
 - δ. ένα σύνολο από περιοριστικές ενδονουκλεάσες που χρησιμοποιούνται για να παράγουν διαφορετικούς κλώνους
 - ε. τίποτε από τα παραπάνω.
- Ποια είναι η σωστή απάντηση;

Το γ



3. Θα μπορούσε να αναπτυχθεί η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA, αν ο γενετικός κώδικας δεν ήταν καθολικός; Αιτιολογήστε την απάντησή σας.

Με τον όρο τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA εννοούμε όλες τις τεχνικές που οδηγούν σε μεταφορά τμήματος DNA από έναν οργανισμό σε έναν άλλο. Το DNA που μεταφέρθηκε θέλουμε να μπορεί να παράγει στο νέο οργανισμό την ίδια πρωτεΐνη. Αυτό μπορεί να συμβεί, μόνο αν η ίδια τριπλέτα DNA καθορίζει (μέσω των κωδικονίων του mRNA) την ένταξη του ίδιου αμινοξέος στην πολυπεπτιδική αλυσίδα. Αυτό επιτυγχάνεται, μόνο επειδή ο γενετικός κώδικας είναι καθολικός.

Το διάγραμμα παρουσιάζει ένα κομμάτι του μορίου του DNA:

α) Να συμπληρώσετε τα κενά πλαίσια με τα γράμματα που αντιστοιχούν στις σωστές βάσεις.

β) Να σχηματίσετε τόξα, που θα δείχνουν τους χημικούς δεσμούς που ανοίγουν, όταν γίνεται αποδιάταξη των κλώνων.

γ) Να δώσετε την ονομασία των ενζύμων που παίζουν τον ρόλο της “κόλας” ανάμεσα στα μέρη του DNA του ίδιου κλώνου.

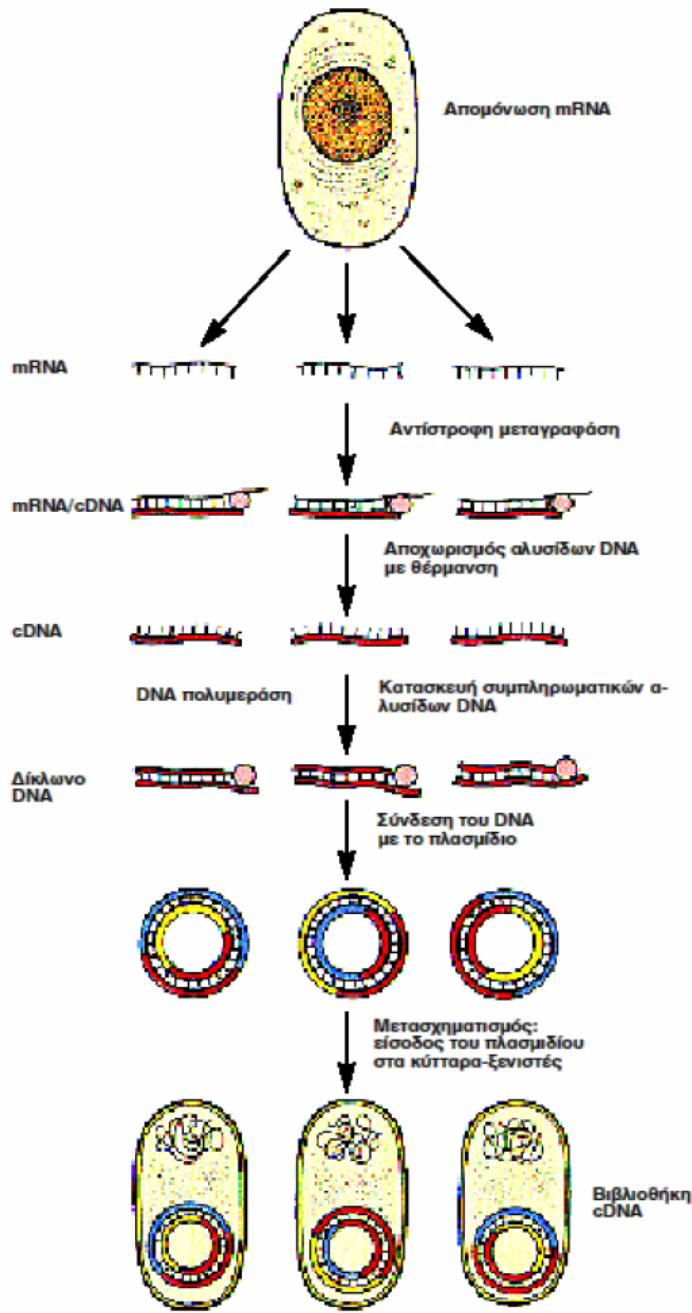


α. Συμπληρωματικότητα των βάσεων A-T και G-C

β. οι δεσμοί που ανοίγουν είναι, οι δεσμοί υδρογόνου, δύο ανάμεσα στη A και τη T και τρεις ανάμεσα στη G και C

γ. DNA δεσμάσες

4. Εξηγήστε με σχήματα πώς παράγεται το cDNA και πώς χρησιμοποιείται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA.



Για να κατασκευαστεί cDNA, απομονώνεται το ολικό mRNA από κύτταρα που εκφράζουν το συγκεκριμένο γονίδιο που μας ενδιαφέρει.

Το mRNA χρησιμοποιείται σαν καλούπι για την σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλυσίδας DNA (cDNA).

Η σύνθεση του cDNA γίνεται από το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση.

Παράγονται έτσι υβριδικά μόρια cDNA-mRNA.

Το mRNA διασπάται με κατάλληλες χημικές ουσίες ή θέρμανση και το cDNA χρησιμεύει σαν καλούπι για την σύνθεση μια συμπληρωματικής αλυσίδας DNA.

Το αποτέλεσμα είναι η δημιουργία δίκλωνου μορίου DNA.

Το δίκλωνο μόριο DNA εισάγεται σε πλασμίδιο η βακτηριοφάγο και κλωνοποιείται.

Το cDNA περιέχει αντίγραφο του mRNA και έχει το πλεονέκτημα απομόνωσης μόνο των αλληλουχιών των γονιδίων που μεταφράζονται σε αμινοξέα, δηλαδή των εξωνίων. Με αυτό τον τρόπο δίνει τη δυνατότητα σύνθεσης της πρωτεΐνης ενός συγκεκριμένου γονιδίου στο κύτταρο ξενιστή.

5. Συμπληρώστε με τις κατάλληλες λέξεις τα κενά στο κείμενο:

Το DNA κόβεται μεσε κομμάτια με γνωστά άκρα. Τα κομμάτια συνδέονται με ένα, που έχει συμπληρωματικό άκρα, με τη βοήθεια ενός ενζύμου, που λέγεται Το cDNA μπορεί να κατασκευαστεί από τομε τη βοήθεια του ενζύμου που ονομάζεται..... και να συνδεθεί με ένα.....Το ανασυνδυασμένο μόριο εισάγεται κατόπιν σε.....

Το DNA κόβεται με περιοριστικές ενδονουκλεάσες σε κομμάτια με γνωστά άκρα. Τα κομμάτια συνδέονται με ένα φορέα κλωνοποίησης, που έχει συμπληρωματικά άκρα, με τη βοήθεια ενός ενζύμου, που λέγεται DNA δεσμάση.

Το cDNA μπορεί να κατασκευαστεί από το m-RNA με τη βοήθεια ενζύμου, που ονομάζεται αντίστροφη μεταγραφή και να συνδεθεί με ένα φορέα κλωνοποίησης. Το ανασυνδυασμένο μόριο εισάγεται σε βακτήριο

6. Ποια κύτταρα θα χρησιμοποιούσατε, για να κατασκευάσετε μία cDNA βιβλιοθήκη, εάν θα θέλατε να απομονώσετε το γονίδιο για την:
- α. Ινσουλίνη
 - β. Αιμοσφαιρίνη
 - γ. Αντισώματα
 - δ. Μυοσίνη

α. Ινσουλίνη

⇒

κύτταρα παγκρέατος

β. Αιμοσφαιρίνη

⇒

πρόδρομα ερυθροκύτταρα

γ. Αντισώματα

⇒

B λεμφοκύτταρα

δ. Μυοσίνη

⇒

μυϊκά κύτταρα

7. Για ποιο λόγο για την ενσωμάτωση DNA ευκαρυωτικού οργανισμού σε πλασμίδιο χρησιμοποιείται η ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση, για να κόψει το πλασμίδιο και το DNA του οργανισμού;

Όπως γνωρίζουμε, οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες είναι ένζυμα που αναγνωρίζουν ειδικές αλληλουχίες του δίκλωνου DNA, μήκους 4-8 νουκλεοτιδίων. Έχουν απομονωθεί πολλές περιοριστικές ενδονουκλεάσες, οι οποίες, όποτε συναντούν την ειδική αλληλουχία στο γονιδίωμα, κόβουν κάθε αλυσίδα σε συγκεκριμένη θέση αφήνοντας μονόκλωνες ουρές από αζευγάρωτα νουκλεοτίδια στα κομμένα άκρα. Τα άκρα αυτά μπορούν να σχηματίσουν υδρογονικούς δεσμούς με τις συμπληρωματικές βάσεις άλλων κομματιών DNA, που έχουν κοπεί με το ίδιο ένζυμο. Επομένως, η ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση μπορεί και κόβει το πλασμίδιο και το DNA του οργανισμού στις ίδιες συγκεκριμένες θέσεις και έτσι δημιουργούνται σ' αυτά άκρα με συμπληρωματικές αλληλουχίες βάσεων. Τα δύο είδη DNA, του πλασμιδίου και του οργανισμού, αναμειγνύονται και, επειδή έχουν συμπληρωματικά άκρα, ενώνονται μεταξύ τους με τη μεσολάβηση της DNA δεσμάσης. Έτσι, δημιουργούνται ανασυνδυασμένα πλασμίδια

8. Ποιος είναι ο ρόλος των παρακάτω στις τεχνικές της Γενετικής Μηχανικής
- α. Περιοριστικές ενδονουκλεάσες
 - β. Πλασμίδια
 - γ. Βακτήρια

α. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες είναι ένζυμα, που αναγνωρίζουν ειδικές αλληλουχίες του δίκλωνου DNA και κόβουν κάθε αλυσίδα του σε συγκεκριμένη θέση αφήνοντας μονόκλωνες ουρές από αζευγάρωτα νουκλεοτίδια στα κομμένα άκρα.

β. Τα πλασμίδια είναι οι φορείς κλωνοποίησης, με τους οποίους ενώνονται τα κομμάτια του DNA από τον οργανισμό-δότη, ώστε να δημιουργηθεί το ανασυνδυασμένο μόριο DNA.

γ. Στα βακτήρια μεταφέρονται τα ανασυνδυασμένα μόρια DNA και τα μετασχηματίζουν. Κάθε βακτήριο προσλαμβάνει ένα μόνο μόριο DNA και μετά τον πολλαπλασιασμό του, δημιουργεί ένα βακτηριακό κλώνο

9. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες:
- α. παράγονται φυσιολογικά από ευκαρυωτικά κύτταρα
 - β. κόβουν μονόκλωνο μόριο DNA
 - γ. κόβουν το DNA σε πολύ εξειδικευμένες θέσεις
 - δ. εισάγονται στα βακτήρια από τους βακτηριοφάγους
- Ποια από τις προτάσεις α, β, γ, δ είναι σωστή;

Το γ

10. Ποια από τις παρακάτω προτάσεις που αφορούν την DNA δεσμάση είναι λανθασμένη;
- α. είναι ένζυμο
 - β. είναι φυσιολογικό συστατικό των κυττάρων
 - γ. μπορεί να ενώνει κομμάτια στο ανασυνδυασμένο DNA
 - δ. παίρνει μέρος στην αντιγραφή του DNA
 - ε. ενώνει πολυπεπίδιο.

Το ε

11. Τι είναι ή σε τι χρησιμοποιείται η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR):
- α. είναι μέθοδος εύρεσης της ακολουθίας βάσεων του DNA
 - β. Χρησιμοποιείται, για να ανιχνεύει ένα ειδικό τμήμα DNA
 - γ .Χρησιμοποιείται, για να παράγει μεγάλες ποσότητες ενός ειδικού τμήματος DNA
 - δ. Χρησιμοποιείται για την χαρτογράφηση γονιδίων

Το γ

12. Σε πείραμα Γενετικής Μηχανικής χρησιμοποιείται πλασμίδιο που έχει δύο γονίδια ανθεκτικότητας σε αντίστοιχα αντιβιοτικά: το ένα γονίδιο προσδίδει ανθεκτικότητα σε αμπικιλίνη και το άλλο σε στρεπτομυκίνη. Στο πλασμίδιο αυτό εισάγεται τμήμα DNA μέσα στο γονίδιο ανθεκτικότητας της αμπικιλίνης. Στη συνέχεια με το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο σχηματίζονται κύτταρα *Escherichia coli*, που δεν είναι ανθεκτικά και στα δύο αντιβιοτικά. Αναλύστε τον τρόπο με τον οποίο μπορούν να επιλεγούν τα βακτήρια που περιέχουν το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.

Τα βακτήρια που περιέχουν το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο θα έχουν ανθεκτικότητα μόνο στο αντιβιοτικό στρεπτομυκίνη, παρουσία του οποίου αναπτύσσονται.

Τα βακτήρια που δεν περιέχουν το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο δεν αναπτύσσονται παρουσία ενός ή και των δύο αντιβιοτικών και τα βακτήρια που περιέχουν το πλασμίδιο χωρίς το ξένο DNA θα είναι ανθεκτικά και στα δύο αντιβιοτικά.

13. Σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο ένα γονίδιο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή μιας πρωτεΐνης 148 αμινοξέων. Αν το ίδιο γονίδιο κλωνοποιηθεί σ' ένα βακτηριακό πληθυσμό, θα παραχθεί η ακριβής πρωτεΐνη; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

Δεν ξέρουμε αν θα εκφραστεί το γονίδιο.

α. Αν το γονίδιο περιέχει εσώνια, η μετάφραση του πρόδρομου mRNA που προκύπτει θα δώσει μια πρωτεΐνη με περισσότερα από 148 αμινοξέα, αφού δεν υπάρχει «διαδικασία της ωρίμανσης στο βακτηριακό κύτταρο.

β. Αν το γονίδιο δεν περιέχει εσώνια, η μετάφραση του σχηματιζόμενου mRNA θα δώσει την ακριβή πρωτεΐνη, αν δεν γίνεται αποκοπή, τμήματος της πρωτεΐνης

γ. Σε πολλές πρωτεΐνες, μετά τη σύνθεσή τους απομακρύνονται ορισμένα αμινοξέα από το αρχικό αμινικό τους άκρο, οπότε αν συμβεί αυτό θα πάρουμε άλλη πρωτεΐνη.

14. Παρατηρήθηκε ότι οι κλώνοι ενός μορίου DNA αποχωρίζονται στη θερμοκρασία των 100⁰C. Οι παρατηρήσεις έδειξαν ότι οι κλώνοι παραμένουν ανέπαφοι. Αυτό το φαινόμενο οι ερευνητές το ονόμασαν αποδιάταξη της νουκλεοτιδικής αλυσίδας.

α) Πώς δρα η θερμοκρασία στο DNA για να γίνει η αποδιάταξη των κλώνων του;

β) Παρατηρήθηκε ότι σε ορισμένες περιπτώσεις η αποδιάταξη των κλώνων είναι φαινόμενο αντιστρεπτό. Ποια σημαντική μέθοδος για τη σύγχρονη Βιολογία ανακαλύφτηκε, που βασίζεται αφενός στην ιδιότητα της αποδιάταξης των κλώνων και αφετέρου στην ιδιότητα της επανέλιξής τους.

α. Διασπά τους δεσμούς υδρογόνου που συνδέουν τις δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες,

β. Η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης.(PCR)

ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΕΝΝΟΙΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ Γ ΛΥΚΕΙΟΥ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ

Κεφάλαιο Πέμπτο
Ενότητα: Μενδελική
Κληρονομικότητα

Που οφείλεται η επιτυχία των
πειραμάτων του Mendel;



Η επιτυχία των πειραμάτων του Mendel στηρίχτηκε στα παρακάτω:

- ✓ Μελέτησε μία ή δύο ξεχωριστές ιδιότητες του φυτού κάθε φορά και όχι το σύνολο των ιδιοτήτων που το χαρακτηρίζει.
- ✓ Χρησιμοποίησε για τα πειράματά του **αμιγή (καθαρό) στελέχη** για τη συγκεκριμένη ιδιότητα που μελετούσε, δηλαδή στελέχη τα οποία μετά την αυτογονιμοποίηση θα παρουσίαζαν για πολλές γενιές την ίδια ιδιότητα
- ✓ Ανέλυσε τα αποτελέσματά του στατιστικά, δηλαδή μετρούσε τους απογόνους των ατόμων τα οποία είχαν μια συγκεκριμένη ιδιότητα και στη συνέχεια υπολόγιζε τις συχνότητες εμφάνισής τους.

Γιατί το μοσχομπίζελο έχει πολλά
πλεονεκτήματα;



Το μοσχομπίζελο έχει πολλά πλεονεκτήματα.


- ✓ Αναπτύσσεται πολύ εύκολα
- ✓ εμφανίζει μεγάλη ποικιλότητα σε πολλούς χαρακτήρες του
- ✓ παρέχει τη δυνατότητα **τεχνητής γονιμοποίησης**, πέρα από την **αυτογονιμοποίηση**, η οποία συμβαίνει φυσιολογικά. Σ' αυτήν, η γύρη από τους στήμονες ενός άνθους πέφτει στον ύπερο του ίδιου άνθους, ενώ στην τεχνητή γονιμοποίηση η γύρη από τους στήμονες ενός άνθους μπορεί να μεταφερθεί με ειδικό εργαλείο στον ύπερο του επιθυμητού άνθους.
- ✓ δίνει μεγάλο αριθμό απογόνων και παρέχει τη δυνατότητα στατιστικής επεξεργασίας των αποτελεσμάτων.

Τι είναι η πατρική γενιά (P); Τι είναι η
θυγατρική γενιά (F1); Πως λέγονται οι
δυσ νόμοι του Mendel;

Aρχικά ο Mendel δημιούργησε αμιγή στελέχη για τη συγκεκριμένη ιδιότητα που μελετούσε. Αφού απέκτησε τέτοια στελέχη, στη συνέχεια έκανε τεχνητή γονιμοποίηση μεταξύ δύο αμιγών φυτών, που διέφεραν ως προς μία ιδιότητα. Τα φυτά αυτά αποτελούσαν την **πατρική γενιά (P)**. Οι απόγονοί τους ήταν η **πρώτη θυγατρική γενιά, (γενιά F1)** που ήταν άτομα υβριδικά, δηλαδή ήταν απόγονοι γονέων που είχαν διαφορετική έκφραση του ίδιου χαρακτήρα, όπως ψηλό και κοντό φυτό. Τα άτομα αυτά τα άφηγε να αυτογονιμοποιηθούν και έπαιρνε τους απογόνους τους, που αποτελούσαν τη **δεύτερη θυγατρική γενιά (γενιά F2)**. Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων του ο Mendel διατύπωσε τους νόμους της κληρονομικότητας: το **νόμο του διαχωρισμού των αλληλόμορφων γονιδίων και το νόμο της ανεξάρτητης μεταβίβασης των γονιδίων.**




Τι λέει ο 1^{ος} νόμος Mendel;
Εξηγήστε έννοιες όπως ομόζυγα,
ετερόζυγα, αλληλόμορφα.



Ο πρώτος νόμος περιγράφει τον τρόπο κληρονόμησης ενός γονιδίου Νόμος διαχωρισμού των αλληλόμορφων γονιδίων

Ο Mendel διασταύρωσε αμιγή κοντά φυτά με αμιγή ψηλά φυτά. Διαπίστωσε ότι όλα τα φυτά της F1 ήταν ψηλά. Όταν τα φυτά της F1 διασταυρώθηκαν μεταξύ τους, προέκυψαν φυτά ψηλά και κοντά σε συγκεκριμένη και ίδια πάντα αναλογία. Επειδή ο κληρονομικός παράγοντας που καθορίζει το χαμηλό ύψος ξαναεμφανίζεται στην F2 γενιά, συμπέρανε ότι δε θα πρέπει να έχει χαθεί από την F1.

Από αυτά τα αποτελέσματα ο Mendel πρότεινε ότι κάθε κληρονομικός χαρακτήρας, όπως το ύψος, ελέγχεται από δύο παράγοντες, που υπάρχουν σε κάθε άτομο. Σήμερα γνωρίζουμε ότι οι “κληρονομικοί παράγοντες” του Mendel είναι τα γονίδια, και ότι οι διαφορετικές μορφές του ίδιου χαρακτήρα ελέγχονται από αλληλόμορφα γονίδια. **Συνεπώς, αλληλόμορφα είναι τα γονίδια που βρίσκονται στην ίδια θέση στα ομόλογα χρωμοσώματα και ελέγχουν την ίδια ιδιότητα, όπως χαμηλό ή ψηλό ύψος φυτού.**



Συνήθως χρησιμοποιείται το πρώτο γράμμα του επικρατούς χαρακτήρα.

- ✓ Εάν ένα άτομο έχει δύο επικρατή αλληλόμορφα, τότε είναι ομόζυγο επικρατές. Αυτό συμβολίζεται με δύο κεφαλαία γράμματα, όπως ΨΨ για τα ψηλά φυτά.
- ✓ Εάν και τα δύο αλληλόμορφα είναι υπολειπόμενα, το άτομο είναι ομόζυγο υπολειπόμενο. Αυτό συμβολίζεται με δυο μικρά γράμματα, όπως ψψ για τα κοντά φυτά.
- ✓ Μια άλλη περίπτωση είναι το άτομο να έχει ένα επικρατές και ένα υπολειπόμενο αλληλόμορφο, δηλαδή να είναι ετερόζυγο. όπως Ψψ, που αντιστοιχεί στα ψηλά φυτά της F1 γενιάς.

Η εμφάνιση ενός ατόμου δεν αποκαλύπτει πάντοτε τα αλληλόμορφα του. Τα ΨΨ και Ψψ φυτά είναι ψηλά, αλλά το πρώτο είναι ομόζυγο και το δεύτερο ετερόζυγο.

Τι είναι γονότυπος κι τι φαινότυπος;



Ο **γονότυπος** αναφέρεται στο σύνολο των αλληλόμορφων γονιδίων ενός οργανισμού, ενώ ο **φαινότυπος** αφορά το σύνολο των χαρακτήρων σε οποίους αποτελούν την έκφραση του γονότυπου ενός οργανισμού, όπως είναι η εξωτερική εμφάνιση και η βιοχημική σύσταση.



Πως κληρονομούνται οι
χαρακτήρες κατά τον Mendel;



Ο τρόπος με τον οποίο κληρονομούνται οι χαρακτήρες τους οποίους μελέτησε ο Mendel είναι αποτέλεσμα των γεγονότων που συμβαίνουν στη μείωση. Όταν παράγεται ένας γαμέτης, διαχωρίζονται τα δύο ομόλογα χρωμοσώματα και συνεπώς και τα δύο αλληλόμορφα γονίδια. Σε ένα φυτό γονότυπου Ψψ, για παράδειγμα, σχηματίζονται δύο ειδών γαμέτες, Ψ και ψ, σε ίση αναλογία. **Οι απόγονοι προκύπτουν από τον τυχαίο συνδυασμό των γαμετών.** Αυτή η κατανομή των αλληλόμορφων στους γαμέτες και ο τυχαίος συνδυασμός τους αποτελεί τον **πρώτο νόμο του Mendel ή νόμο του διαχωρισμού των αλληλόμορφων γονιδίων**

Να περιγραφούν οι νόμοι του Mendel με
τη διαδικασία της μείωσης και του
τετραγώνου του Punnett

Ο Mendel διασταύρωσε κοντά ($\psi\psi$) με ψηλά ($\Psi\Psi$) φυτά.

Τα φυτά της F1 είχαν όλα τον ίδιο φαινότυπο, ψηλό με γονότυπο $\Psi\psi$ (ετερόζυγα). **Βγαίνει λοιπόν το συμπέρασμα, ότι όλα τα άτομα της F1 γενιάς είναι φαινοτυπικά όμοια.**

<i>ΓΑΜΙΕΤΕΣ</i>	ψ	ψ
Ψ	$\Psi\psi$	$\Psi\psi$
Ψ	$\Psi\psi$	$\Psi\psi$

Στη συνέχεια διασταύρωσε τα φυτά της F1 μεταξύ τους. Από τη διασταύρωση προκύπτουν άτομα $\Psi\Psi$, $\Psi\psi$ και $\psi\psi$.

- ✓ Ένα άτομο $\Psi\Psi$ προκύπτει, όταν ένας γαμέτης που περιέχει το αλληλόμορφο Ψ γονιμοποιήσει ένα γαμέτη που περιέχει επίσης το αλληλόμορφο Ψ .
- ✓ Ένα $\psi\psi$ φυτό προκύπτει, όταν ένας ψ γαμέτης γονιμοποιήσει έναν ψ γαμέτη, και
- ✓ ένα $\Psi\psi$ άτομο προκύπτει από συνδυασμό ενός Ψ με έναν ψ γαμέτη.

Επειδή οι δύο από τους τέσσερις δυνατούς συνδυασμούς γαμετών παράγουν ένα ετερόζυγο άτομο, ενώ οι υπόλοιποι συνδυασμοί δίνουν ομόζυγο,

- ✓ η γονοτυπική αναλογία από μια διασταύρωση μονοϋβριδισμού δύο ατόμων της F1 είναι:
1 $\Psi\Psi$: 2 $\Psi\psi$: 1 $\psi\psi$.
- ✓ Η αντίστοιχη φαινοτυπική αναλογία είναι 3 ψηλά προς 1 κοντό φυτό, δηλαδή 3:1.

Αυτές οι αναλογίες υπολογίζονται εύκολα με τη δημιουργία του τετραγώνου του Punnett.

ΓΑΜΙΕΤΕΣ

	Ψ	ψ
Ψ	$\Psi\Psi$	$\Psi\psi$
ψ	$\psi\Psi$	$\psi\psi$

Οι διασταυρώσεις αυτού του τύπου, όπου μελετάται ο τρόπος κληρονομής ενός χαρακτήρα, ονομάζονται διασταυρώσεις **μονοϋβριδισμού**.

Ο Mendel προκειμένου να εξακριβώσει αν ένα ψηλό φυτό είχε γονότυπο **ΨΨ(ομόζυγο)** ή **Ψψ (ετερόζυγο)** πραγματοποίησε επιπλέον διασταυρώσεις.

Διασταύρωσε ψηλά φυτά άγνωστου γονότυπου με κοντά (**ψψ**) φυτά.

Όταν ένα ψηλό φυτό που διασταυρωνόταν με ένα κοντό (**ψψ**) φυτό έδινε ψηλούς και κοντούς απογόνους, τότε ο Mendel ήξερε ότι το φυτό ήταν **Ψψ (ετερόζυγο)**,

<i>ΓΑΜΕΤΕΣ</i>	Ψ	ψ
Ψ	Ψψ	Ψψ
ψ	ψψ	ψψ

ενώ αν έδινε μόνο ψηλά φυτά, ήταν **ΨΨ (ομόζυγο)**.

<i>ΓΑΜΕΤΕΣ</i>	Ψ	ψ
Ψ	Ψψ	Ψψ
Ψ	Ψψ	Ψψ

Η διασταύρωση ενός ατόμου άγνωστου γονότυπου με ένα άτομο ομόζυγο για το υπολειπόμενο αλληλόμορφο γονίδιο ονομάζεται **διασταύρωση ελέγχου**.

Το ομόζυγο υπολειπόμενο άτομο έχει πάντοτε ένα μόνο γονότυπο που καθορίζει και το φαινότυπο, δηλαδή ένα κοντό φυτό είναι πάντοτε **ψψ**.

Περιγράψτε το δεύτερο νόμο του Mendel εξηγώντας την πορεία που ακολούθησε ο Mendel

Ο δεύτερος νόμος του Mendel περιγράφει τον τρόπο κληρονομής δύο γονιδίων- Νόμος της ανεξάρτητης μεταβίβασης των γονιδίων

Σε μια δεύτερη σειρά πειραμάτων ο Mendel μελέτησε την κληρονομικότητα δύο διαφορετικών χαρακτήρων. Οι χαρακτήρες που επέλεξε ήταν το **σχήμα και το χρώμα του σπέρματος**. Το σχήμα του σπέρματος μπορεί να είναι λείο ή ρυτιδωμένο (καθορίζεται από τα αλληλόμορφα Λ,λ) και το χρώμα είναι κίτρινο ή πράσινο (καθορίζεται από τα αλληλόμορφα Κ,κ). Όταν ο Mendel διασταύρωσε αμιγή φυτά με λεία και κίτρινα σπέρματα με φυτά που είχαν ρυτιδωμένα και πράσινα σπέρματα, όλοι οι απόγονοι είχαν λεία και κίτρινα σπέρματα. Έβγαλε συνεπώς το συμπέρασμα ότι το αλληλόμορφο που καθορίζει το λείο σχήμα σπέρματος είναι επικρατές έναντι του ρυτιδωμένου, και, αντίστοιχα, αυτό που καθορίζει το κίτρινο χρώμα είναι επικρατές του πράσινου.

Στη συνέχεια, διασταύρωσε τα φυτά της F1 (γονότυπος ΚκΛλ) μεταξύ τους. Ο Mendel παρατήρησε τέσσερις τύπους σπερμάτων στην F2 γενιά: λεία και κίτρινα, λεία και πράσινα, ρυτιδωμένα και κίτρινα, καθώς και ρυτιδωμένα και πράσινα σε αναλογία 9:3:3:1

<i>ΓΑΜΕΤΕΣ</i>	ΚΛ	Κλ	κΛ	κλ
ΚΛ	ΚΚΛΛ	ΚΚΛλ	ΚκΛΛ	ΚκΛλ
Κλ	ΚΚΛλ	ΚΚλλ	ΚκΛλ	Κκλλ
κΛ	ΚκΛΛ	κΚΛλ	κκΛΛ	ΚκΛλ
κλ	κΚΛλ	κΚλλ	κκΛλ	κκλλ

Βασιζόμενος σε αυτά τα αποτελέσματα ο Mendel πρότεινε το δεύτερο νόμο της ανεξάρτητης μεταβίβασης των γονιδίων, που αναφέρει ότι το γονίδιο που ελέγχει ένα χαρακτήρα δεν επηρεάζει τη μεταβίβαση του γονιδίου που ελέγχει έναν άλλο χαρακτήρα. Σήμερα είναι γνωστό ότι αυτό ισχύει μόνο για γονίδια που βρίσκονται σε διαφορετικά ζεύγη ομολόγων χρωμοσωμάτων. Ο ανεξάρτητος διαχωρισμός των γονιδίων γίνεται, επειδή τα χρωμοσώματα κάθε γονέα συνδυάζονται με τυχαίο τρόπο κατά τη δημιουργία των γαμετών. **Οι διασταυρώσεις αυτού του τύπου, που μελετάται ο τρόπος κληρονομής δύο χαρακτήρων ονομάζονται διασταυρώσεις διυβριδισμού.** Στις διασταυρώσεις αυτές κάθε γονέας παράγει ίσο αριθμό γαμετών τεσσάρων διαφορετικών τύπων: ΛΚ, Λκ, λΚ και λκ. Το τετράγωνο του **Punnett** γι' αυτή τη διασταύρωση προσδιορίζει τη φαινοτυπική αναλογία των δημιουργουμένων ατόμων, όπως ακριβώς τους προσδιόρισε ο Mendel

Υπάρχουν περιπτώσεις που δεν ισχύουν οι νόμοι του Mendel;



Όταν η γονιδιακή έκφραση τροποποιεί τις αναλογίες που προκύπτουν από τους νόμους του Mendel

Μερικές φορές οι φαινοτυπικές αναλογίες των απογόνων δεν είναι αυτές που αναμένονται από τους νόμους του Mendel. Σε αυτές τις περιπτώσεις μπορεί να φαίνεται ότι δεν ισχύουν οι νόμοι του Mendel, αλλά αυτό στην πραγματικότητα συμβαίνει λόγω της ατελούς επικρατίας.

Ατελώς επικρατή και συνεπικρατή γονίδια

Μερικά γονίδια είναι ατελώς επικρατή, οπότε ο φαινότυπος ετερόζυγων ατόμων είναι ενδιάμεσος μεταξύ των δύο ομόζυγων. Όταν διασταυρώνεται ένα *Antirrhinum* με κόκκινα άνθη (K^1K^1) με ένα άλλο φυτό που έχει λευκά άνθη (K^2K^2), οι απόγονοι της F1 γενιάς έχουν άνθη με ενδιάμεσο χρώμα (K^1K^2), ροζ.

Γονότυπος	$K^1 K^1$	$K^2 K^2$
Φαινότυπος	Κόκκινο άνθος	Λευκό άνθος
Γαμέτες	K^1	K^2
Απόγονοι	$K^1 K^2$ 100% ροζ άνθος	

Στην F2 γενιά η γονοτυπική αναλογία είναι ίδια με τη φαινοτυπική, δηλαδή


1 κόκκινο (K^1K^1): 2 ροζ (K^1K^2): 1 λευκό (K^2K^2)

P_1	$K^1 K^2$	$K^1 K^2$	Γονότυπος
	Ροζ άνθος	Ροζ άνθος	Φαινότυπος
γαμέτες	K^1	K^2	Απόγονοι F_1
K^1	$K^1 K^1$	$K^1 K^2$	25% κόκκινα, 50% ροζ και 25% άσπρα
K^2	$K^1 K^2$	$K^2 K^2$	

Επειδή σ' αυτή την περίπτωση ο φαινότυπος των ετερόζυγων ατόμων διαφέρει από το φαινότυπο των ομόζυγων, η αναλογία είναι διαφορετική από την αναλογία 3:1 που παρατηρείται στις περιπτώσεις των επικρατών υπολειπόμενων γονιδίων. Όταν ένα ετερόζυγο άτομο έχει φαινότυπο που είναι ενδιάμεσος ως προς τους αντίστοιχους των δύο γονέων του, τότε τα γονίδιά του ονομάζονται ατελώς επικρατή. Σε τέτοιου τύπου διασταυρώσεις οι γονοτυπικές και φαινοτυπικές αναλογίες είναι ίδιες.

Περιπτώσεις στις οποίες στα ετερόζυγα άτομα εκφράζονται και τα δύο αλληλόμορφα στο φαινότυπο τα γονίδια ονομάζονται **συνεπικρατη**. 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 A και B αντιγόνα αντίστοιχα, ενώ το i δεν κωδικοποιεί κάποιο ένζυμο. Τα I^A και I^B είναι συνεπικρατή, ενώ το i είναι υπολειπόμενο. Άτομα ομάδας A έχουν γονότυπο $I^A I^A$ ή $I^A i$. Άτομα ομάδας B έχουν $I^B I^B$ ή $I^B i$, ενώ άτομα AB έχουν $I^A I^B$. Τα άτομα ομάδας O είναι ii .



Τι είναι θνησιγόνα και τι πολλαπλά
αλληλόμορφα γονίδια;




Θνησιγόνα αλληλόμορφα

Τα γονίδια αρχίζουν τη λειτουργία τους πολύ σύντομα μετά τη γονιμοποίηση. Μερικά αλληλόμορφα, όμως, δημιουργούν τόσο σοβαρά προβλήματα σε ένα έμβρυο που οδηγούν σε διακοπή της ανάπτυξης συνήθως πριν από την 8η εβδομάδα. Ένα τέτοιο άτομο δεν επιβιώνει μέχρι τη γέννηση και συνεπώς ο αντίστοιχος φαινότυπος χάνεται. Το αλληλόμορφο που προκαλεί πρόωρο θάνατο ονομάζεται θνησιγόνο. Τα θνησιγόνα αλληλόμορφα προκαλούν αυτόματες αποβολές, δηλαδή πρόωρο τερματισμό της κύησης. Όταν ένας άνδρας και μια γυναίκα έχουν ο καθένας από ένα υπολειπόμενο θνησιγόνο αλληλόμορφο για το ίδιο γονίδιο, κάθε απόγονος τους έχει 25% πιθανότητα να είναι ομόζυγος για αυτά και συνεπώς να μην επιβιώνει μέχρι τη γέννηση

Πολλαπλά αλληλόμορφα

Εως τώρα έχουν αναφερθεί κυρίως περιπτώσεις όπου σε μια γενετική θέση, δηλαδή στη θέση στην οποία βρίσκεται ένα γονίδιο που καθορίζει ένα χαρακτήρα, αντιστοιχούν δύο αλληλόμορφα. Στις περισσότερες περιπτώσεις το ένα αλληλόμορφο είναι επικρατές και το άλλο υπολειπόμενο. Είναι επίσης γνωστό ότι στα διτιλοειδή κύτταρα υπάρχουν δύο αλληλόμορφα για μία ορισμένη γενετική θέση, ενώ ένα απλοειδές κύτταρο, όπως ένας γαμέτης, έχει μόνο ένα. Εντούτοις, εάν εξετάσουμε ένα πληθυσμό ατόμων μπορεί να βρούμε περισσότερα από δύο αλληλόμορφα για μία γενετική θέση. Εάν στον πληθυσμό υπάρχουν τρία ή περισσότερα αλληλόμορφα για μία γενετική θέση, τότε αυτά ονομάζονται πολλαπλά αλληλόμορφα. Πολλά γονίδια που ευθύνονται για τη δημιουργία ασθενειών έχουν πολλαπλά αλληλόμορφα γονίδια, όπως συμβαίνει στη β-θαλασσαιμία. Συνήθως κάθε αλληλόμορφο σχετίζεται με διαφορετική μορφή της ίδιας ασθένειας, όπως η ήπια ή η σοβαρή. Τα γονίδια που καθορίζουν την ομάδα αίματος σύμφωνα με το σύστημα ABO είναι επίσης πολλαπλά αλληλόμορφα. **Τα πολλαπλά αλληλόμορφα μπορεί να αλλάζουν τις αναλογίες των νόμων του Mendel, επειδή δημιουργούν πολλά είδη φαινοτύπων λόγω των διαφορετικών συνδυασμών που γίνονται.**



Στον άνθρωπο εμφανίζεται η
μενδελική κληρονομικότητα;



Στον άνθρωπο εφαρμόζεται η Μενδελική κληρονομικότητα

Tο μωσχομπίζελο είναι ιδανικό για τη μελέτη του τρόπου μεταβίβασης των κληρονομικών χαρακτήρων, δηλαδή των τύπων κληρονομικότητας. Στον άνθρωπο όμως η μελέτη αυτή εμφανίζει πολλές δυσκολίες. Αυτό συμβαίνει, επειδή οι άνθρωποι έχουν μικρό αριθμό απογόνων, ενώ η κάθε γενιά έχει μεγάλη διάρκεια, Περίπου 20-30 χρόνια. Επιπλέον στον άνθρωπο δεν είναι δυνατόν να γίνουν διασταυρώσεις ανάλογες με εκείνες που έκανε ο Mendel, χρησιμοποιώντας το μωσχομπίζελο. Παρ' όλες τις δυσκολίες η Γενετική Ανθρώπου έχει προοδεύσει λόγω του μεγάλου ενδιαφέροντος που υπάρχει για την κατανόηση του τρόπου κληρονόμησης διάφορων χαρακτήρων από τους γονείς στους απογόνους.

Η μελέτη του τρόπου κληρονόμησης των διάφορων χαρακτήρων γίνεται στα άτομα μεγάλων οικογενειών. Όσο περισσότερα άτομα μπορούν να μελετηθούν σε μια οικογένεια τόσο ευκολότερο είναι να καθοριστεί ο τύπος κληρονομικότητας. Είναι βασικό να τονιστεί ότι στον άνθρωπο, το Μενδελικό τύπο κληρονομικότητας ακολουθούν οι χαρακτήρες που καθορίζονται από αλληλόμορφα ενός μόνο γονιδίου. Αυτοί ονομάζονται μονογονιδιακοί χαρακτήρες και σε αυτούς περιλαμβάνονται διάφορες μονογονιδιακές ασθένειες

Τι είναι το γενεαλογικό δέντρο και πως εφαρμόζεται στην κληρονομικότητα του ανθρώπου;

Γενεαλογικό δένδρο: η διαγραμματική απεικόνιση των μελών μιας οικογένειας για πολλές γενιές στην οποία φαίνονται οι γάμοι, η σειρά των γεννήσεων, το φύλλο των μελών της οικογένειας και ο φαινότυπος τους σε κάποιο κληρονομικό χαρακτήρα

Οι πληροφορίες που συλλέγονται από το **ιστορικό μιας οικογένειας** για έναν ορισμένο χαρακτήρα αναπαρίστανται σε ένα γενεαλογικό δένδρο, που περιγράφει τις σχέσεις γονέων και παιδιών σε πολλές γενιές. **Το γενεαλογικό δένδρο, δηλαδή, είναι η διαγραμματική απεικόνιση των μελών μιας οικογένειας για πολλές γενιές, στην οποία αναπαρίστανται οι γάμοι, η σειρά των γεννήσεων, το φύλο των ατόμων και ο φαινότυπός τους σε σχέση με κάποιο συγκεκριμένο χαρακτήρα**

Κάθε άτομο που απεικονίζεται στο γενεαλογικό δένδρο χαρακτηρίζεται από δύο αριθμούς:

- ✓ έναν λατινικό, ο οποίος προσδιορίζει τη γενιά του ατόμου (σε σχέση με την πατρική) και
- ✓ έναν αραβικό, ο οποίος δηλώνει τη σειρά γέννησης του ατόμου από ένα γάμο.

Τα αρσενικά άτομα αναπαρίστανται με ένα τετράγωνο και τα θηλυκά με έναν κύκλο. Για άτομα των οποίων δε γνωρίζουμε το φύλο χρησιμοποιείται ο ρόμβος.

Χρησιμοποιούνται επίσης σύμβολα για να αναπαραστήσουν τους γάμους ανάμεσα σε δύο άτομα, τους απογόνους ενός γάμου, τα άτομα που εμφανίζουν ένα συγκεκριμένο χαρακτήρα, καθώς και πολλά άλλα στοιχεία.

Τα σύμβολα που χρησιμοποιούνται είναι:



Αρσενικό άτομο φυσιολογικό ή που δεν εμφανίζει το χαρακτηριστικό



Θηλυκό άτομο φυσιολογικό ή που δεν εμφανίζει το χαρακτηριστικό



Θηλυκό άτομο μη φυσιολογικό ή που εμφανίζει το χαρακτηριστικό



Αρσενικό άτομο το οποίο έχει αποβιώσει



2 αρσενικά άτομα
3 θηλυκά άτομα



1 άτομο αγνώστου φύλου



Γάμος



Αιμομειξία



Αρσενικό άτομο ετερόζυγο για ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα



Θηλυκό άτομο φορέας φυλοσύνδετου υπολειπόμενου χαρακτήρα



Διζυγωπικοί δίδυμοι



Μονοζυγωπικοί δίδυμοι (πανομοιότυποι)

Τα γενεαλογικά δένδρα συνεισφέρουν σημαντικά στη μελέτη του τρόπου κληρονόμησης διάφορων χαρακτήρων και βοηθούν στη γενετική καθοδήγηση.

Τι γνωρίζετε για την αυτοσωμική
επικρατής ασθένεια;



Πολλές από τις ασθένειες που έχουν μελετηθεί στον άνθρωπο ελέγχονται από αυτοσωμικά επικρατή γονίδια. **Στην κλασική αυτοσωμική επικρατή κληρονομικότητα κάθε ασθενής στο γενεαλογικό δένδρο έχει ένα τουλάχιστον ασθενή γονέα**

Στις περισσότερες από τις περιπτώσεις που έχουν μελετηθεί ο ένας γονέας είναι συνήθως ετερόζυγος για το συγκεκριμένο γονίδιο και ο άλλος ομόζυγος για το φυσιολογικό υπολειπόμενο αλληλόμορφο. Συνεπώς οι γονότυποι των γονέων συμβολίζονται Aa αα, όπου A επικρατές γονίδιο που σχετίζεται με την ασθένεια και αα φυσιολογικό αλληλόμορφο

		ΓΑΜΙΕΤΕΣ	
		Φυσιολογικός γονέας	
Ασθενής γονέας	A	Aa	Aa
	a	αα	αα

Κάθε απόγονος των ανωτέρω γονέων έχει 50% πιθανότητα να κληρονομήσει το αλληλόμορφο A του ασθενούς γονέα και να είναι και ο ίδιος ασθενής (Aa), καθώς και 50% πιθανότητα να κληρονομήσει το φυσιολογικό αλληλόμορφο a και να είναι φυσιολογικός (αα). Ο φυσιολογικός γονέας μεταβιβάζει μόνο το φυσιολογικό αλληλόμορφο a σε κάθε παιδί του. **Κάθε κύηση είναι ένα ανεξάρτητο γεγονός, που δε σχετίζεται με το αποτέλεσμα προηγούμενων κύσεων.** Η θεωρητικά αναμενόμενη αναλογία 1:1 φυσιολογικών και ασθενών ατόμων, η οποία παρατηρείται στον πληθυσμό μπορεί να είναι διαφορετική, όταν εξετάζεται ο μικρός αριθμός των ατόμων μέσα σε μια οικογένεια.

Κάθε ασθενές άτομο έχει έναν ασθενή γονέα καθώς η ασθένεια προσβάλλει τόσο τα αρσενικά όσο και τα θηλυκά άτομα

1. Οικογενή υπερχοληστερολαιμία (συχνότητα 1:500 άτομα) που σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο πρόωμης εμφάνισης στεφανιαίας νόσου
2. Γραμμική τριχοφυΐας με κορυφή

Εξαίρεση αποτελούν οι περιπτώσεις εκείνες κατά τις οποίες η διαταραχή που εξετάζεται οφείλεται σε μια νέα μετάλλαξη, δηλαδή εμφανίζεται για πρώτη φορά μέσα στην οικογένεια.

Τι γνωρίζετε για την αυτοσωμική
υπολειπόμενη κληρονομικότητα;



Σημαντικό ποσοστό από τις ασθένειες που έχουν μελετηθεί στον άνθρωπο ελέγχονται από αυτοσωμικά υπολειπόμενα γονίδια.

1. δρεπανοκυτταρική αναιμία
2. β-θαλασσαιμία
3. κυστική ίνωση
4. προσκολλημένοι λοβοί αυτιών
5. μερική αχρωματοψία στο κυανό
6. αλφισμός

Σε αντίθεση με τις αυτοσωμικές επικρατείς ασθένειες, στις οποίες τα ασθενή άτομα είναι συνήθως ετερόζυγα, **οι αυτοσωμικές υπολειπόμενες ασθένειες εκφράζονται μόνο στα ομόζυγα άτομα, τα οποία να έχουν κληρονομήσει ένα παθολογικό αλληλόμορφο από κάθε γονέα.** Συνήθως και οι δύο γονείς ενός ασθενούς είναι 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%.

		Φορέας	
		A	a
Φορέας	A	AA	Aa
	a	Aa	aa

Η πιθανότητα και οι δύο σύζυγοι να είναι φορείς της ίδιας ασθένειας που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο είναι πολύ μικρή. Αυξάνεται όμως σε περίπτωση που οι δύο σύζυγοι είναι στενοί συγγενείς, όπως αδέρφια ή ξαδέρφια. Αυτό συμβαίνει, επειδή τα άτομα με κοινούς προγόνους είναι πιθανότερο να έχουν τα ίδια υπολειπόμενα αλληλόμορφα σε σχέση με άτομα μη συγγενικά. **Στην περίπτωση που υπάρχει αιμομειξία συμβολίζεται στο γενεαλογικό δένδρο με διπλή γραμμή**



Τι γνωρίζετε για την φυλοσύνδετη
υπολειπόμενη κληρονομικότητα;



Σ τον άνθρωπο υπάρχει ένα ζεύγος χρωμοσωμάτων, που ονομάζονται **φυλετικά** και διαφέρουν ανάμεσα σε αρσενικά και θηλυκά άτομα. Τα φυσιολογικά θηλυκά άτομα έχουν ένα ζεύγος όμοιων X χρωμοσωμάτων, ενώ τα φυσιολογικά αρσενικά άτομα έχουν ένα X και ένα Y χρωμόσωμα. Τα γονίδια που βρίσκονται στο X χρωμόσωμα και δεν έχουν αλληλόμορφα στο Y ονομάζονται **φυλοσύνδετα** και ο τρόπος με τον οποίο κληρονομούνται αναφέρεται ως **φυλοσύνδετη κληρονομικότητα**.

Η αιμορροφιλία A είναι μια κλασική φυλοσύνδετη διαταραχή, στην οποία το αίμα δεν πήζει φυσιολογικά λόγω έλλειψης του παράγοντα VIII, μιας αντιαιμορροφιλικής πρωτεΐνης. Το γονίδιο που είναι υπεύθυνο για την εμφάνιση της ασθένειας είναι υπολειπόμενο φυλοσύνδετο και συμβολίζεται με X^a . Το φυσιολογικό αλληλόμορφο συμβολίζεται με X^A . Επειδή τα αρσενικά άτομα έχουν ένα X χρωμόσωμα ενώ τα θηλυκά έχουν δύο, θα υπάρχουν δύο πιθανοί γονότυποι στα αρσενικά και τρεις στα θηλυκά

Η κληρονομικότητα των φυλοσύνδετων υπολειπόμενων γονιδίων ακολουθεί ένα εύκολα αναγνωρίσιμο πρότυπο **Ένα υπολειπόμενο φυλοσύνδετο γονίδιο εκφράζεται φαινοτυπικά σε όλα τα αρσενικά άτομα που φέρουν το γονίδιο αλλά μόνο σε εκείνα τα θηλυκά που είναι ομόζυγα για το υπολειπόμενο γονίδιο**. Συνεπώς, οι ασθένειες που ελέγχονται από υπολειπόμενα φυλοσύνδετα γονίδια εμφανίζονται συχνότερα στα αρσενικά άτομα και πάρα πολύ σπάνια στα θηλυκά άτομα

Ο τρόπος κληρονόμησης της αιμορροφιλίας έχει μελετηθεί από πολύ παλιά. Ήταν γνωστό ότι η βασίλισσα Βικτώρια ήταν φορέας και μεταβίβασε τη «βασιλική αιμορροφιλία» στους απογόνους της.

Εάν ένας αιμορροφιλικός άντρας παντρευτεί μια γυναίκα φυσιολογική (ομόζυγη), όλοι οι αρσενικοί απόγονοι του θα πάρουν το Y χρωμόσωμα από τον πατέρα τους και το X από τη μητέρα τους και θα είναι υγιείς, ενώ όλοι θηλυκοί είναι υποχρεωτικά φορείς

		Φυσιολογικός	
		X^A	X^A
Ασθενής	Y	$X^A Y$	$X^A Y$
	X^a	$X^A X^a$	$X^A X^a$
			Φορέας

Ας υποθέσουμε τώρα ότι ένας θηλυκός απόγονος της προηγούμενης περίπτωσης, δηλαδή μια φορέας της ασθένειας, παντρεύεται ένα φυσιολογικό άνδρα. Δημιουργούνται απόγονοι με τέσσερις γονοτύπους, που εμφανίζονται με ίση συχνότητα

		Φορέας	
		X^A	X^a
Φυσιολογικός	Y	X^AY	X^aY
	X^A	X^AX^A	X^AX^a

Είναι προφανές ότι η αιμορροφιλία που εμφάνιζε ο παππούς και η οποία δεν εκδηλώθηκε σε κανένα από τα παιδιά του έχει 50% πιθανότητα να μεταβιβαστεί, μέσω της κόρης του, στα αρσενικά εγγόνια του. Η κόρη μιας γυναίκας φορέα έχει επίσης 50% πιθανότητα να είναι και η ίδια φορέας, εάν ο πατέρας της είναι φυσιολογικός.

Με τον ίδιο τύπο κληρονομικότητας κληρονομείται και η μερική αχρωματοψία στο πράσινο και το κόκκινο χρώμα. Στο μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος X του ανθρώπου βρίσκονται γονίδια που μας δίνουν τη δυνατότητα να αντιλαμβανόμαστε το κόκκινο και πράσινο χρώμα. Μεταλλαγμένο αλληλόμορφα των γονιδίων αυτών έχουν ως αποτέλεσμα την μερική αχρωματοψία. Τα γονίδια για το κυανό χρώμα είναι αυτοσωμικά.

ΛΥΣΕΙΣ ΣΧΟΛΙΚΟΥ ΒΙΒΛΙΟΥ



1. Γιατί οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες και οι φορείς κλωνοποίησης είναι απαραίτητα εργαλεία για τη Γενετική Μηχανική;

- Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες είναι ένζυμα που παράγονται από βακτήρια. Διασπών τους φωσφοδιεστερικούς δεσμούς στο εσωτερικό του μορίου και είναι τα απαραίτητα εργαλεία για τη Γενετική Μηχανική, επειδή αναγνωρίζουν και κόβουν τις ίδιες πάντα ειδικές αλληλουχίες του δι-κλωνου DNA, αφήνοντας μονόκλωνες ουρές από αζευγάρωτα νουκλεοτίδια στα κομμένα άκρα. (Υπάρχουν ορισμένες περιοριστικές ενδονουκλεάσες, που κόβουν το DNA χωρίς να δημιουργούν μονόκλωνες ουρές). Τα άκρα αυτά μπορούν να σχηματίσουν υδρογονικούς δεσμούς με τις συμπληρωματικές βάσεις του φορέα κλωνοποίησης που έχει κοπεί με το ίδιο ένζυμο. Τα δύο είδη DNA μπορεί να αναμειχθούν, και επειδή έχουν συμπληρωματικά άκρα, ενώνονται μεταξύ τους με τη μεσολάβηση της DNA δεσμάσης. Έτσι, δημιουργούνται ανασυνδυασμένα μόρια DNA.
- Οι φορείς κλωνοποίησης είναι απαραίτητα εργαλεία για τη Γενετική Μηχανική, επειδή είναι μόρια αυτόνομα, που μπορούν να αναπαράγονται ανεξάρτητα. Οι φορείς κλωνοποίησης είναι μόρια DNA όπως πλασμίδια, DNA φάγων, που μπορούν να αυτόδιπλασιάζονται μέσα σε ένα κύτταρο ξενιστή όπως ένα βακτήριο. Το DNA απομονώνεται από έναν οργανισμό-δότη, κόβεται ενζυματικά με τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες, ενώνεται με το φορέα κλωνοποίησης και δημιουργείται ένα ανασυνδυασμένο μόριο DNA

2. Τι είναι μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη;
- α. ένα κλώνος βακτηρίων που περιέχει ένα τμήμα DNA ενός οργανισμού
 - β. μια συλλογή βιβλίων για κλώνους
 - γ. ένα σύνολο από κλώνους βακτηρίων που ο καθένας έχει ένα πλασμίδιο με διαφορετικό τμήμα DNA ενός οργανισμού
 - δ. ένα σύνολο από περιοριστικές ενδονουκλεάσες που χρησιμοποιούνται για να παράγουν διαφορετικούς κλώνους
 - ε. τίποτε από τα παραπάνω.
- Ποια είναι η σωστή απάντηση;

Το γ



3. Θα μπορούσε να αναπτυχθεί η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA, αν ο γενετικός κώδικας δεν ήταν καθολικός; Αιτιολογήστε την απάντησή σας.

Με τον όρο τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA εννοούμε όλες τις τεχνικές που οδηγούν σε μεταφορά τμήματος DNA από έναν οργανισμό σε έναν άλλο. Το DNA που μεταφέρθηκε θέλουμε να μπορεί να παράγει στο νέο οργανισμό την ίδια πρωτεΐνη. Αυτό μπορεί να συμβεί, μόνο αν η ίδια τριπλέτα DNA καθορίζει (μέσω των κωδικονίων του mRNA) την ένταξη του ίδιου αμινοξέος στην πολυπεπτιδική αλυσίδα. Αυτό επιτυγχάνεται, μόνο επειδή ο γενετικός κώδικας είναι καθολικός.

Το διάγραμμα παρουσιάζει ένα κομμάτι του μορίου του DNA:

α) Να συμπληρώσετε τα κενά πλαίσια με τα γράμματα που αντιστοιχούν στις σωστές βάσεις.

β) Να σχηματίσετε τόξα, που θα δείχνουν τους χημικούς δεσμούς που ανοίγουν, όταν γίνεται αποδιάταξη των κλώνων.

γ) Να δώσετε την ονομασία των ενζύμων που παίζουν τον ρόλο της “κόλας” ανάμεσα στα μέρη του DNA του ίδιου κλώνου.

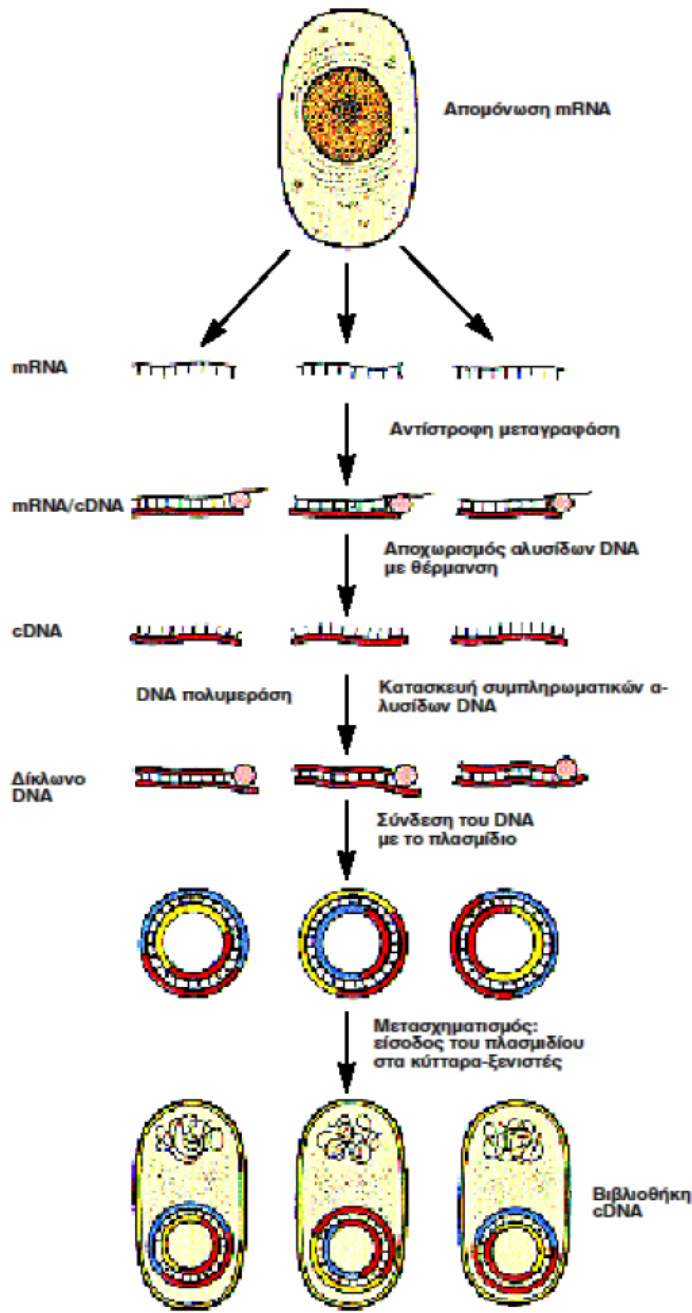


α. Συμπληρωματικότητα των βάσεων A-T και G-C

β. οι δεσμοί που ανοίγουν είναι, οι δεσμοί υδρογόνου, δύο ανάμεσα στη A και τη T και τρεις ανάμεσα στη G και C

γ. DNA δεσμάσες

4. Εξηγήστε με σχήματα πώς παράγεται το cDNA και πώς χρησιμοποιείται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA.



Για να κατασκευαστεί cDNA, απομονώνεται το ολικό mRNA από κύτταρα που εκφράζουν το συγκεκριμένο γονίδιο που μας ενδιαφέρει.

Το mRNA χρησιμοποιείται σαν καλούπι για την σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλυσίδας DNA (cDNA).

Η σύνθεση του cDNA γίνεται από το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση.

Παράγονται έτσι υβριδικά μόρια cDNA-mRNA.

Το mRNA διασπάται με κατάλληλες χημικές ουσίες ή θέρμανση και το cDNA χρησιμεύει σαν καλούπι για την σύνθεση μια συμπληρωματικής αλυσίδας DNA.

Το αποτέλεσμα είναι η δημιουργία δίκλωνου μορίου DNA.

Το δίκλωνο μόριο DNA εισάγεται σε πλασμίδιο η βακτηριοφάγο και κλωνοποιείται.

Το cDNA περιέχει αντίγραφο του mRNA και έχει το πλεονέκτημα απομόνωσης μόνο των αλληλουχιών των γονιδίων που μεταφράζονται σε αμινοξέα, δηλαδή των εξωνίων. Με αυτό τον τρόπο δίνει τη δυνατότητα σύνθεσης της πρωτεΐνης ενός συγκεκριμένου γονιδίου στο κύτταρο ξενιστή.

5. Συμπληρώστε με τις κατάλληλες λέξεις τα κενά στο κείμενο:

Το DNA κόβεται μεσε κομμάτια με γνωστά άκρα. Τα κομμάτια συνδέονται με ένα, που έχει συμπληρωματικό άκρα, με τη βοήθεια ενός ενζύμου, που λέγεται Το cDNA μπορεί να κατασκευαστεί από τομε τη βοήθεια του ενζύμου που ονομάζεται..... και να συνδεθεί με ένα.....Το ανασυνδυασμένο μόριο εισάγεται κατόπιν σε.....

Το DNA κόβεται με περιοριστικές ενδονουκλεάσες σε κομμάτια με γνωστά άκρα. Τα κομμάτια συνδέονται με ένα φορέα κλωνοποίησης, που έχει συμπληρωματικά άκρα, με τη βοήθεια ενός ενζύμου, που λέγεται DNA δεσμάση.

Το cDNA μπορεί να κατασκευαστεί από το m-RNA με τη βοήθεια ενζύμου, που ονομάζεται αντίστροφη μεταγραφή και να συνδεθεί με ένα φορέα κλωνοποίησης. Το ανασυνδυασμένο μόριο εισάγεται σε βακτήριο

6. Ποια κύτταρα θα χρησιμοποιούσατε, για να κατασκευάσετε μία cDNA βιβλιοθήκη, εάν θα θέλατε να απομονώσετε το γονίδιο για την:
- α. Ινσουλίνη
 - β. Αιμοσφαιρίνη
 - γ. Αντισώματα
 - δ. Μυοσίνη

α. Ινσουλίνη

⇒

κύτταρα παγκρέατος

β. Αιμοσφαιρίνη

⇒

πρόδρομα ερυθροκύτταρα

γ. Αντισώματα

⇒

B λεμφοκύτταρα

δ. Μυοσίνη

⇒

μυϊκά κύτταρα

7. Για ποιο λόγο για την ενσωμάτωση DNA ευκαρυωτικού οργανισμού σε πλασμίδιο χρησιμοποιείται η ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση, για να κόψει το πλασμίδιο και το DNA του οργανισμού;

Όπως γνωρίζουμε, οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες είναι ένζυμα που αναγνωρίζουν ειδικές αλληλουχίες του δίκλωνου DNA, μήκους 4-8 νουκλεοτιδίων. Έχουν απομονωθεί πολλές περιοριστικές ενδονουκλεάσες, οι οποίες, όποτε συναντούν την ειδική αλληλουχία στο γονιδίωμα, κόβουν κάθε αλυσίδα σε συγκεκριμένη θέση αφήνοντας μονόκλωνες ουρές από αζευγάρωτα νουκλεοτίδια στα κομμένα άκρα. Τα άκρα αυτά μπορούν να σχηματίσουν υδρογονικούς δεσμούς με τις συμπληρωματικές βάσεις άλλων κομματιών DNA, που έχουν κοπεί με το ίδιο ένζυμο. Επομένως, η ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση μπορεί και κόβει το πλασμίδιο και το DNA του οργανισμού στις ίδιες συγκεκριμένες θέσεις και έτσι δημιουργούνται σ' αυτά άκρα με συμπληρωματικές αλληλουχίες βάσεων. Τα δύο είδη DNA, του πλασμιδίου και του οργανισμού, αναμειγνύονται και, επειδή έχουν συμπληρωματικά άκρα, ενώνονται μεταξύ τους με τη μεσολάβηση της DNA δεσμάσης. Έτσι, δημιουργούνται ανασυνδυσασμένα πλασμίδια

- 8. Ποιος είναι ο ρόλος των παρακάτω στις τεχνικές της Γενετικής Μηχανικής**
- α. Περιοριστικές ενδονουκλεάσες**
 - β. Πλασμίδια**
 - γ. Βακτήρια**

α. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες είναι ένζυμα, που αναγνωρίζουν ειδικές αλληλουχίες του δίκλωνου DNA και κόβουν κάθε αλυσίδα του σε συγκεκριμένη θέση αφήνοντας μονόκλωνες ουρές από αζευγάρωτα νουκλεοτίδια στα κομμένα άκρα.

β. Τα πλασμίδια είναι οι φορείς κλωνοποίησης, με τους οποίους ενώνονται τα κομμάτια του DNA από τον οργανισμό-δότη, ώστε να δημιουργηθεί το ανασυνδυασμένο μόριο DNA.

γ. Στα βακτήρια μεταφέρονται τα ανασυνδυασμένα μόρια DNA και τα μετασχηματίζουν. Κάθε βακτήριο προσλαμβάνει ένα μόνο μόριο DNA και μετά τον πολλαπλασιασμό του, δημιουργεί ένα βακτηριακό κλώνο

9. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες:
- α. παράγονται φυσιολογικά από ευκαρυωτικά κύτταρα
 - β. κόβουν μονόκλωνο μόριο DNA
 - γ. κόβουν το DNA σε πολύ εξειδικευμένες θέσεις
 - δ. εισάγονται στα βακτήρια από τους βακτηριοφάγους
- Ποια από τις προτάσεις α, β, γ, δ είναι σωστή;

Το γ

10. Ποια από τις παρακάτω προτάσεις που αφορούν την DNA δεσμάση είναι λανθασμένη;
- α. είναι ένζυμο
 - β. είναι φυσιολογικό συστατικό των κυττάρων
 - γ. μπορεί να ενώνει κομμάτια στο ανασυνδυασμένο DNA
 - δ. παίρνει μέρος στην αντιγραφή του DNA
 - ε. ενώνει πολυπεπίδιο.

Το ε

11. Τι είναι ή σε τι χρησιμοποιείται η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR):
- α. είναι μέθοδος εύρεσης της ακολουθίας βάσεων του DNA
 - β. Χρησιμοποιείται, για να ανιχνεύει ένα ειδικό τμήμα DNA
 - γ .Χρησιμοποιείται, για να παράγει μεγάλες ποσότητες ενός ειδικού τμήματος DNA
 - δ. Χρησιμοποιείται για την χαρτογράφηση γονιδίων

Το γ

12. Σε πείραμα Γενετικής Μηχανικής χρησιμοποιείται πλασμίδιο που έχει δύο γονίδια ανθεκτικότητας σε αντίστοιχα αντιβιοτικά: το ένα γονίδιο προσδίδει ανθεκτικότητα σε αμπικιλίνη και το άλλο σε στρεπτομυκίνη. Στο πλασμίδιο αυτό εισάγεται τμήμα DNA μέσα στο γονίδιο ανθεκτικότητας της αμπικιλίνης. Στη συνέχεια με το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο σχηματίζονται κύτταρα *Escherichia coli*, που δεν είναι ανθεκτικά και στα δύο αντιβιοτικά. Αναλύστε τον τρόπο με τον οποίο μπορούν να επιλεγούν τα βακτήρια που περιέχουν το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.

Τα βακτήρια που περιέχουν το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο θα έχουν ανθεκτικότητα μόνο στο αντιβιοτικό στρεπτομυκίνη, παρουσία του οποίου αναπτύσσονται.

Τα βακτήρια που δεν περιέχουν το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο δεν αναπτύσσονται παρουσία ενός ή και των δύο αντιβιοτικών και τα βακτήρια που περιέχουν το πλασμίδιο χωρίς το ξένο DNA θα είναι ανθεκτικά και στα δύο αντιβιοτικά.

13. Σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο ένα γονίδιο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή μιας πρωτεΐνης 148 αμινοξέων. Αν το ίδιο γονίδιο κλωνοποιηθεί σ' ένα βακτηριακό πληθυσμό, θα παραχθεί η ακριβής πρωτεΐνη; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

Δεν ξέρουμε αν θα εκφραστεί το γονίδιο.

α. Αν το γονίδιο περιέχει εσώνια, η μετάφραση του πρόδρομου mRNA που προκύπτει θα δώσει μια πρωτεΐνη με περισσότερα από 148 αμινοξέα, αφού δεν υπάρχει «διαδικασία της ωρίμανσης στο βακτηριακό κύτταρο.

β. Αν το γονίδιο δεν περιέχει εσώνια, η μετάφραση του σχηματιζόμενου mRNA θα δώσει την ακριβή πρωτεΐνη, αν δεν γίνεται αποκοπή, τμήματος της πρωτεΐνης

γ. Σε πολλές πρωτεΐνες, μετά τη σύνθεσή τους απομακρύνονται ορισμένα αμινοξέα από το αρχικό αμινικό τους άκρο, οπότε αν συμβεί αυτό θα πάρουμε άλλη πρωτεΐνη.

14. Παρατηρήθηκε ότι οι κλώνοι ενός μορίου DNA αποχωρίζονται στη θερμοκρασία των 100⁰C. Οι παρατηρήσεις έδειξαν ότι οι κλώνοι παραμένουν ανέπαφοι. Αυτό το φαινόμενο οι ερευνητές το ονόμασαν αποδιάταξη της νουκλεοτιδικής αλυσίδας.

α) Πώς δρα η θερμοκρασία στο DNA για να γίνει η αποδιάταξη των κλώνων του;

β) Παρατηρήθηκε ότι σε ορισμένες περιπτώσεις η αποδιάταξη των κλώνων είναι φαινόμενο αντιστρεπτό. Ποια σημαντική μέθοδος για τη σύγχρονη Βιολογία ανακαλύφτηκε, που βασίζεται αφενός στην ιδιότητα της αποδιάταξης των κλώνων και αφετέρου στην ιδιότητα της επανέλιξής τους.

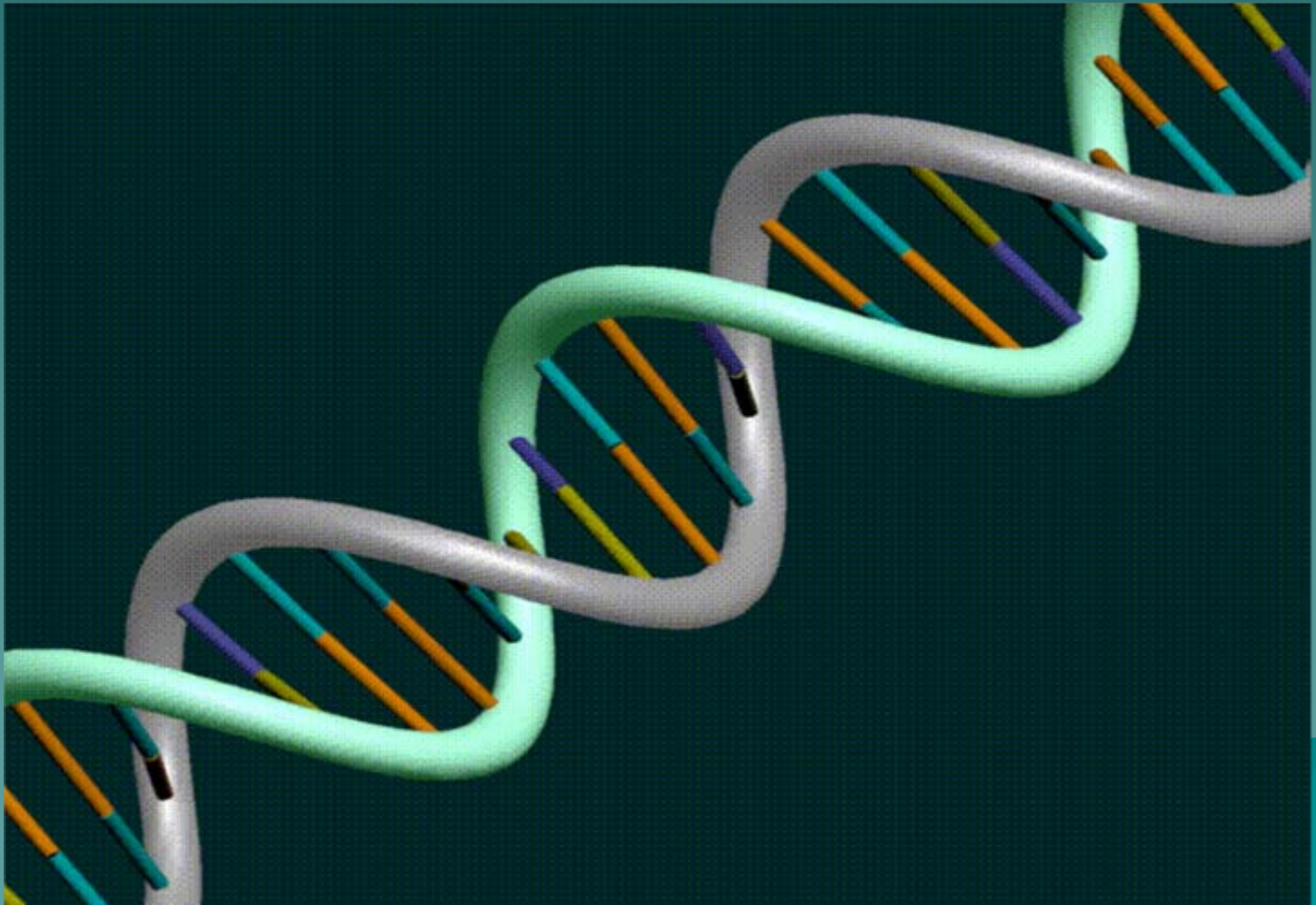
α. Διασπά τους δεσμούς υδρογόνου που συνδέουν τις δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες,

β. Η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης.(PCR)

ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΕΝΝΟΙΩΝ ΣΤΗ
ΒΙΟΛΟΓΙΑ Γ ΛΥΚΕΙΟΥ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ

Κεφάλαιο Έκτο
Ενότητα: Μεταλλάξεις

Τι ονομάζουμε μεταλλάξεις και ποιες είναι οι κατηγορίες τους ανάλογα με την έκταση της αλλαγής;



Tο γενετικό υλικό μπορεί να υποστεί αλλαγές με πολλούς διαφορετικούς τρόπους. Το γεγονός αυτό δεν προκαλεί έκπληξη. Σκεφθείτε με πόσους τρόπους μπορεί να αλλάξουν οι λέξεις που υπάρχουν σ' αυτή τη σελίδα. Οι αλλαγές στην αλληλουχία του DNA, που ονομάζονται **μεταλλάξεις**, δημιουργούν συνήθως ένα διαφορετικό φαινότυπο, χωρίς όμως αυτό να είναι πάντοτε απαραίτητο. Αυτό εξαρτάται από τον τρόπο με τον οποίο η αλλαγή επιδρά στο γονιδιακό προϊόν, δηλαδή στην πρωτεΐνη.

Οι γενετιστές κατατάσσουν τις μεταλλάξεις σε δύο μεγάλες κατηγορίες: Τις **γονιδιακές** και τις **χρωμοσωμικές**. Ο τυπικός αυτός διαχωρισμός σχετίζεται με την έκταση της αλλαγής. Αν αυτή αφορά μικρό αριθμό βάσεων, στις οποίες συμβαίνει **αντικατάσταση, προσθήκη ή έλλειψη**, τότε ονομάζεται γονιδιακή μετάλλαξη. Αν αφορά αλλαγές σε μεγαλύτερο τμήμα του χρωμοσώματος, ονομάζεται χρωμοσωμική ανωμαλία.

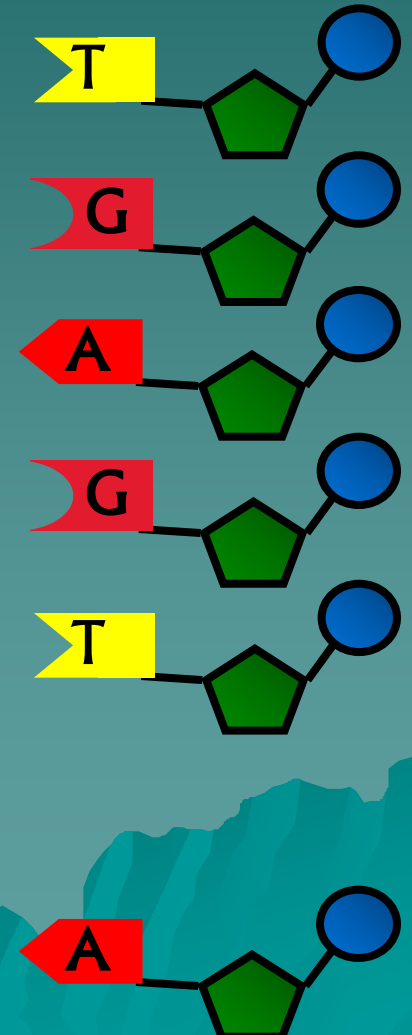
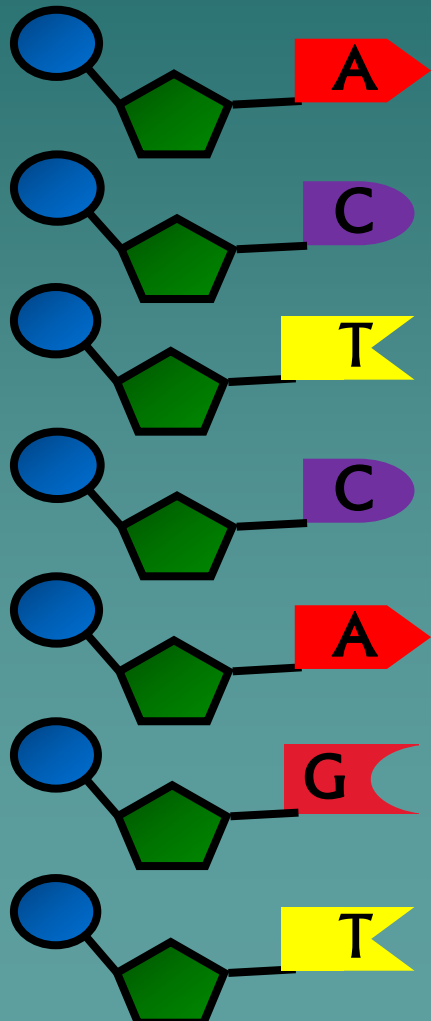
Οι μεταλλάξεις συμβάλλουν στη δημιουργία γενετικής ποικιλότητας στον πληθυσμό, και ευθύνονται για πολλές κληρονομικές ασθένειες, καθώς και για πολλές περιπτώσεις καρκίνου. Μεταλλάξεις μπορεί να συμβούν σε οποιοδήποτε γεννητικό ή σωματικό κύτταρο ενός οργανισμού. Μόνο οι μεταλλάξεις των γεννητικών κυττάρων, εν τούτοις, μπορεί να μεταβιβαστούν από τη μια γενιά στην επόμενη. Αυτό όμως δε σημαίνει ότι οι σωματικές μεταλλάξεις είναι λιγότερο σημαντικές για την υγεία. Στην πραγματικότητα αποτελούν την πλειονότητα των μεταλλάξεων, δεδομένου ότι ένας ενήλικας οργανισμός αποτελείται από 10^{13} περίπου σωματικά κύτταρα.

Σε ποια κύτταρα συμβαίνουν μεταλλάξεις;



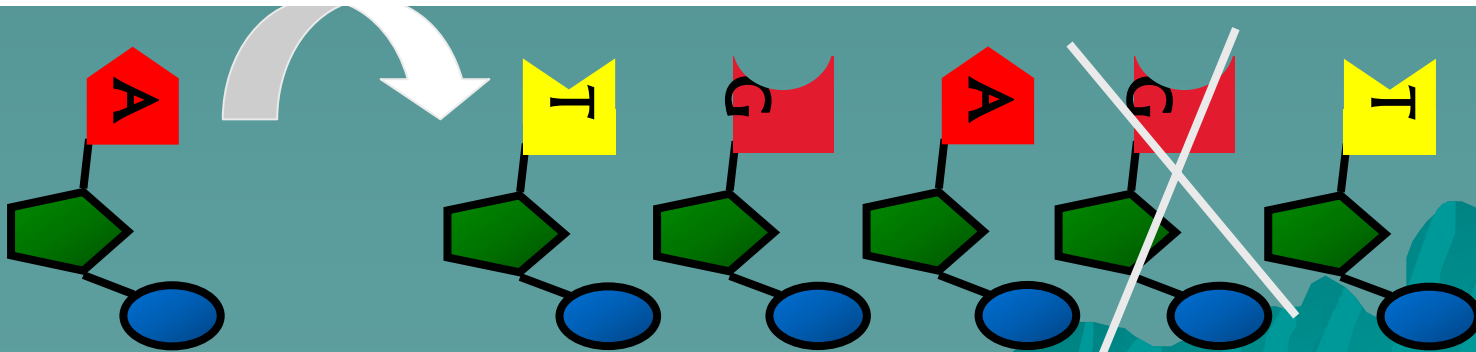
Οι μεταλλάξεις είναι δυνατόν να συμβούν σε όλους τους τύπους κυττάρων. Στους πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς γίνονται τόσο στα σωματικά όσο και στα γεννητικά κύτταρα. Οι μεταλλάξεις των γεννητικών κυττάρων είναι δυνατόν να μεταβιβαστούν στην επόμενη γενιά, δηλαδή στους απογόνους – άτομα, ενώ οι μεταλλάξεις των σωματικών κυττάρων μεταβιβάζονται στους απογόνους – κύτταρα.

Ποιες είναι οι κατηγορίες των
γονιδιακών μεταλλάξεων ως προς το
είδος της αλλαγής;

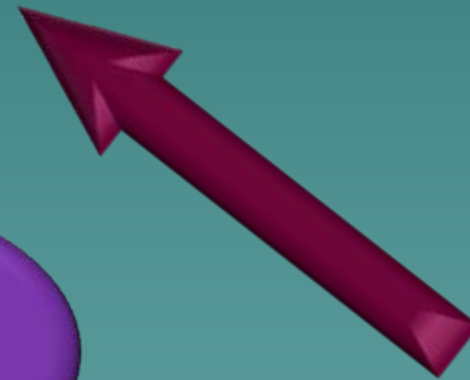
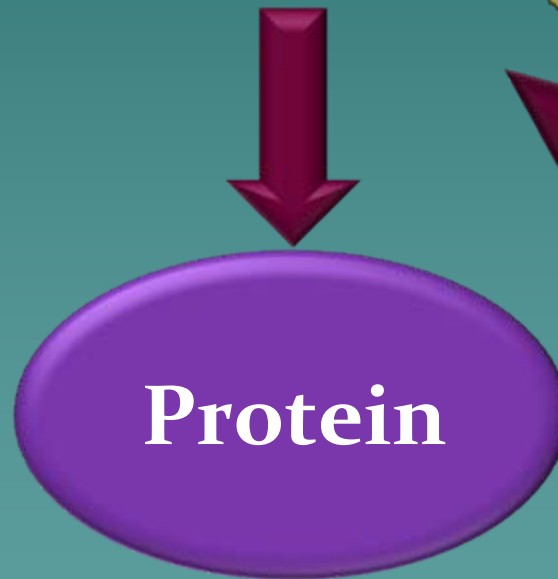


Tο παράδειγμα της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας δείχνει ότι μία ασθένεια μπορεί να είναι το αποτέλεσμα αντικατάστασης μίας μόνο από τα δισεκατομμύρια βάσεων DNA! Αλλαγές αυτού του τύπου ονομάζονται **αντικατάσταση βάσης**, και μπορεί να έχουν ποικίλα αποτελέσματα στην πρωτεΐνη που παράγεται από το αντίστοιχο γονίδιο. Στην περίπτωση που η διαφορετική τριπλέτα που προέκυψε κωδικοποιεί το ίδιο αμινοξύ (συνώνυμο κωδικόνιο) δεν αλλάζει η ακολουθία αμινοξέων στην παραγόμενη πρωτεΐνη.

Στις περισσότερες όμως περιπτώσεις μια αντικατάσταση βάσης δημιουργεί μια τριπλέτα που κωδικοποιεί ένα διαφορετικό αμινοξύ και κατά συνέπεια μια αλλαγμένη πρωτεΐνη. Εάν το διαφορετικό αμινοξύ βρίσκεται στο ενεργό κέντρο ενός ενζύμου ή κοντά σε αυτό, τότε η ενεργότητά του, δηλαδή η ικανότητα κατάλυσης αντιδράσεων, μπορεί να ελαττωθεί ή και να μηδενισθεί. Επίσης, σε άλλα είδη πρωτεϊνών η μετάλλαξη μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγή της δομής τους και συνεπώς και της λειτουργίας τους, όπως στην περίπτωση της HbS στη δρεπανοκυτταρική αναιμία. Σε άλλες περιπτώσεις μια αντικατάσταση βάσης μπορεί να μετατρέψει ένα κωδικόνιο, που κωδικοποιεί κάποιο αμινοξύ, σε ένα κωδικόνιο λήξης, με αποτέλεσμα τον τερματισμό σύνθεσης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Στις περισσότερες από αυτές τις περιπτώσεις καταστρέφεται η λειτουργικότητα της πρωτεΐνης.



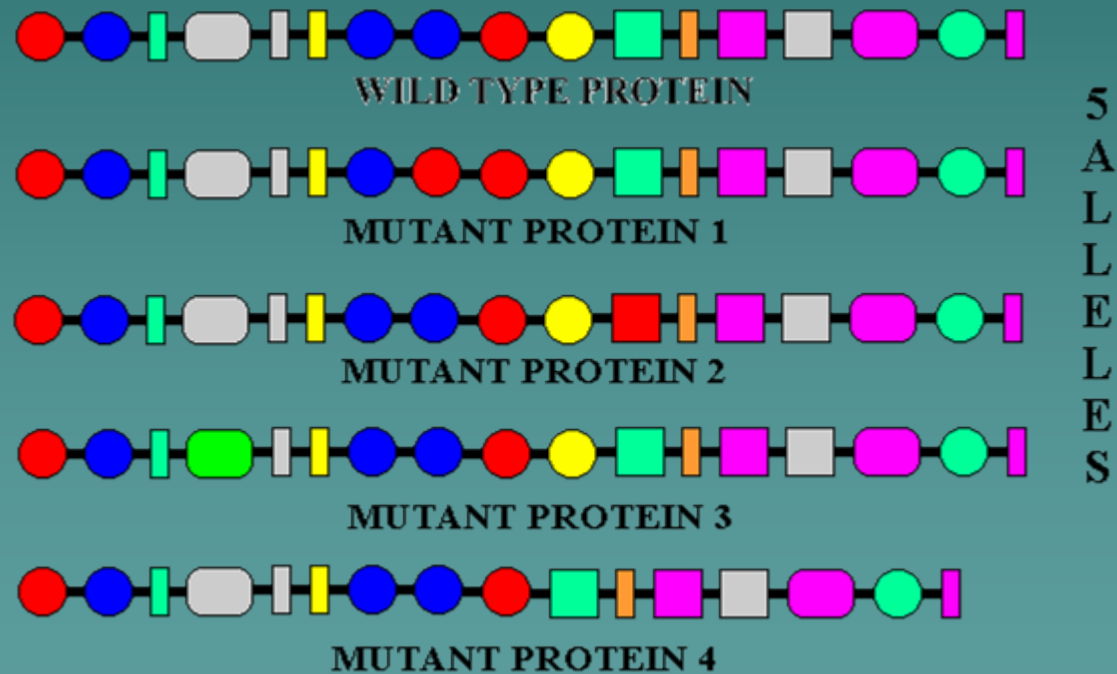
Ποια είναι τα αποτελέσματα στα οποία μπορεί να οδηγήσει η αντικατάσταση μιας βάσης από μια άλλη σε μεταφράσιμη περιοχή του DNA;



Μετάλλαξη

Κωδικοποίηση ίδιου / διαφορετικού αμινοξέος ή μη κωδικοποίηση πρωτεΐνης

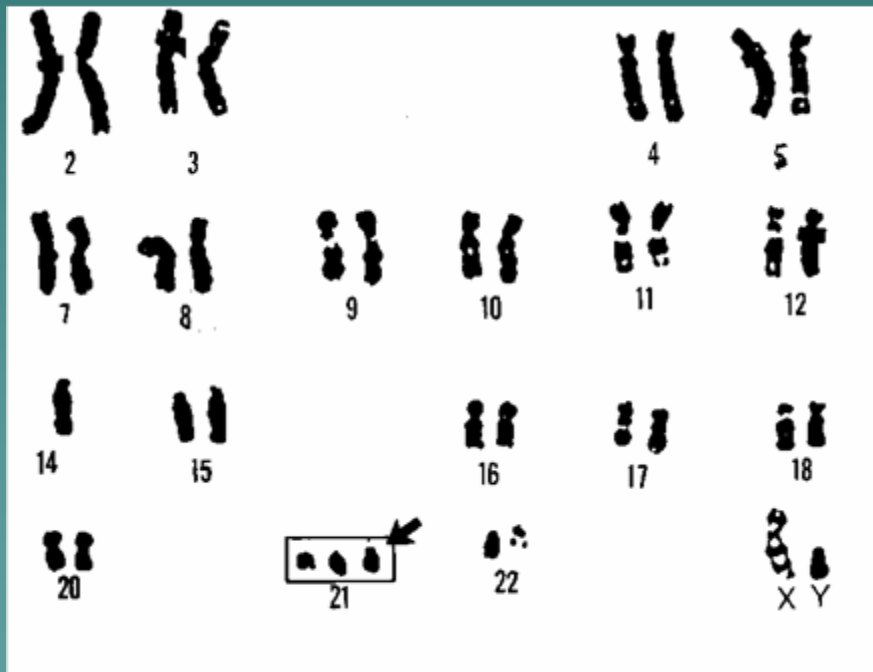
Ποια είναι τα αποτελέσματα στα οποία μπορεί να οδηγήσει η προσθήκη ή η έλλειψη αριθμού βάσεων σε μεταφράσιμη περιοχή του DNA;



Ένας άλλος σημαντικός τύπος γονιδιακών μεταλλάξεων περιλαμβάνει **προσθήκη ή έλλειψη βάσεων**. Αλλαγές στον αριθμό των βάσεων έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μεταλλαγμένων φαινοτύπων. Η προσθήκη ή η έλλειψη διαδοχικών βάσεων σε οποιοδήποτε αριθμό πολλαπλάσιο του τρία δημιουργεί, αντίστοιχα, προσθήκη ή έλλειψη ενός ή περισσότερων αμινοξέων στην πολυπεπτιδική αλυσίδα, που μπορεί να αλλάζει τη λειτουργικότητά της. Αν όμως ο αριθμός των βάσεων είναι διαφορετικός του τρία ή πολλαπλασίων του, τότε η αλληλουχία των αμινοξέων δεν εμφανίζει πλέον πολλές ομοιότητες με την αρχική.



Σε ποιες περιπτώσεις οι γονιδιακές μεταλλάξεις που συμβαίνουν στο μεταφράσιμο τμήμα του DNA δεν είναι βλαβερές;



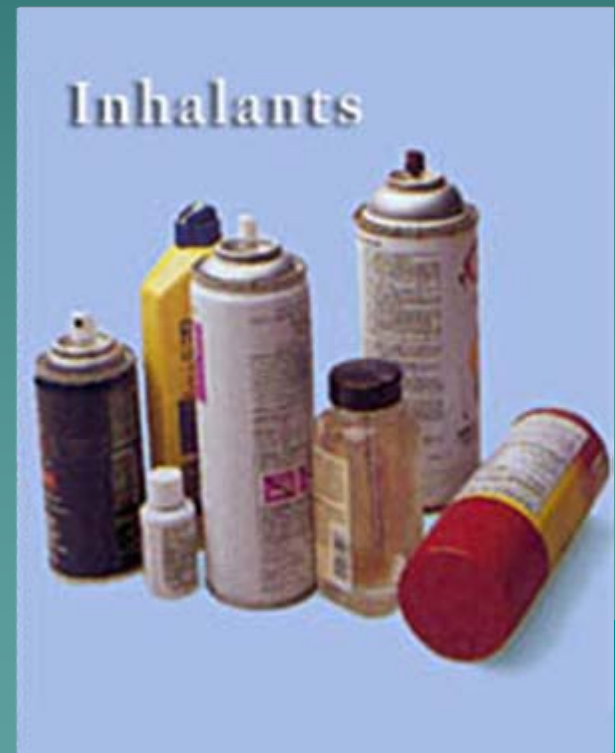
Σύνδρομο Down

Μολονότι οι περισσότερες μεταλλάξεις οδηγούν σε αποτέλεσμα που δεν είναι ευνοϊκό για τον οργανισμό, μερικές από αυτές εμφανίζουν πλεονεκτήματα. Χωρίς τις μεταλλάξεις η γενετική ποικιλότητα θα περιοριζόταν αρκετά και η εξέλιξη, όπως τη γνωρίζουμε σήμερα, δε θα είχε συμβεί.

Οι περισσότερες από τις μεταλλάξεις θεωρούνται επιβλαβείς, επειδή έχουν σοβαρή επίπτωση στον οργανισμό. Πολλές όμως δεν είναι επιβλαβείς και χαρακτηρίζονται ως **ουδέτερες**. Για παράδειγμα, μεταλλάξεις που οδηγούν σε αλλαγή ενός μόνο αμινοξέος μπορεί να έχουν ελάχιστη επίδραση στη στερεοδιάταξη και στη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης. Οι αλλαγές που συμβαίνουν σ' ένα γονίδιο και δεν οδηγούν σε αλλαγή της αλληλουχίας των αμινοξέων της δημιουργούμενης πρωτεΐνης, λόγω εκφυλισμού του γενετικού κώδικα, ονομάζονται **σιωπηλές μεταλλάξεις**. Αλλαγές στην αλληλουχία των βάσεων παρατηρούνται όχι μόνο σε περιοχές του DNA που μεταγράφονται (γονίδια) αλλά και στις υπόλοιπες.



Ποιοι είναι οι παράγοντες που προκαλούν μεταλλάξεις; Ποιες μεταλλάξεις ονομάζονται αυτόματες;



Οι μεταλλάξεις που εμφανίζονται αιφνίδια μέσα στον πληθυσμό ονομάζονται **αυτόματες** και θεωρείται ότι προέρχονται από λάθη που γίνονται κατά την αντιγραφή του DNA ή κατά τη διαίρεση των χρωμοσωμάτων.

Όλες οι μεταλλάξεις δε δημιουργούνται αυτόματα. Πολλοί τύποι μεταλλάξεων μπορεί να προκληθούν από παράγοντες του περιβάλλοντος, που ονομάζονται **μεταλλαξογόνοι**. Σ' αυτούς περιλαμβάνονται διάφορες χημικές ουσίες καθώς και διάφοροι τύποι ακτινοβολιών, όπως η X και η γ-ακτινοβολία. Μερικές από τις χημικές ουσίες που έχουν μεταλλαξογόνο δράση είναι η φορμαλδεύδη, ορισμένες χρωστικές, αρωματικοί κυκλικοί υδρογονάνθρακες ακόμα και η καφεΐνη. Πολλές από αυτές τις ουσίες βρίσκονται σε γεωργικά, βιομηχανικά και φαρμακευτικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται ευρύτατα.

Πώς λοιπόν ένα κύτταρο μπορεί να διατηρήσει σταθερή μια αλληλουχία βάσεων απαραίτητη για τη ζωή υπερπηδώντας αυτές τις βλάβες που δημιουργούνται από τους διάφορους μεταλλαξογόνους παράγοντες; Η απάντηση είναι ότι τα κύτταρα περιέχουν πάρα πολλά ένζυμα, που αναγνωρίζουν την βλάβη και επιδιορθώνουν το DNA. Περισσότερο από 99.9 % των λαθών της αντιγραφής του DNA επιδιορθώνονται με αυτό τον τρόπο. Θα μπορούσαμε λοιπόν να παρομοιάσουμε το κύτταρο με ένα αυτοκίνητο, το οποίο ενώ βρίσκεται διαρκώς σε κίνηση διαθέτει μια ομάδα μηχανικών, που επιδιορθώνει όλες τις βλάβες του, αμέσως μόλις προκύψουν και έτσι το αυτοκίνητο δε σταματά να λειτουργεί φυσιολογικά.

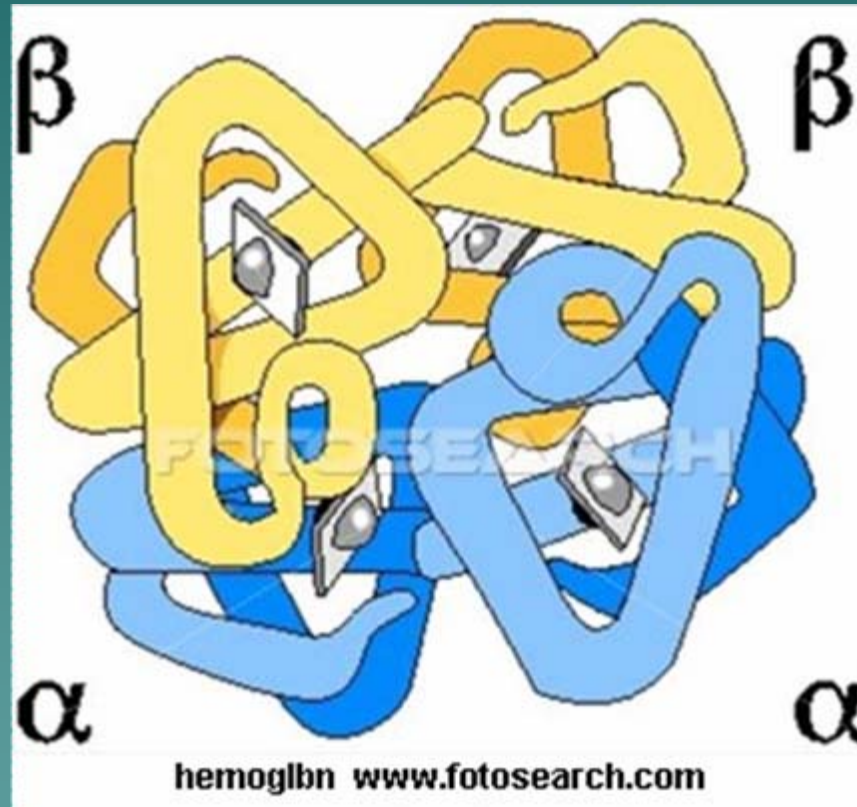
ΑΣΚΗΣΗ 1

Σε φυσιολογική πολυπεπτιδική ομάδα το αμινοξύ της θέσεως 32 είναι γλυκίνη. Έχουν αναφερθεί 3 μεταλλάξεις στη θέση αυτή με παρατήρηση αλανίνης, τρυπτοφάνης και αργινίνης. Ποιο είναι το κωδικόνιο της γλυκίνης στο συγκεκριμένο φυσιολογικό γονίδιο; (Συμβουλευτείτε τον γενετικό κώδικα)

Το κωδικόνιο της γλυκίνης είναι ένα από τα: GGT, GGA, GGC, GGG. Το κωδικόνιο αλανίνης είναι ένα από τα: GCT, GCC, GCA, GCG.

Με αλλαγή της δεύτερης γουανίνης σε κυτοσίνη έχουμε αυτή την μετάλλαξη. Όμως, για την τρυπτοφάνη με κωδικόνια TGG μπορεί εύκολα να γίνει GGG. Τα υπόλοιπα απαιτούν περισσότερες αλλαγές, άρα το πιο πιθανό κωδικόνιο για τη γληκίνη είναι το GGG. Επίσης, το GGG γίνεται εύκολα CGG ή AGG (αργινίνη).

Τι είναι η αιμοσφαιρίνη, που βρίσκεται και ποιος ο ρόλος της;




Σκίτσο - αιμοσφαιρίνη, μόριο

Tα ερυθρά αιμοσφαίρια του ανθρώπου περιέχουν κυρίως μια πρωτεΐνη, την αιμοσφαιρίνη. Κάθε μόριο αιμοσφαιρίνης, που έχει σφαιρικό σχήμα στο χώρο, αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες, ανά δύο όμοιες, καθεμιά από τις οποίες περιέχει μια ομάδα αίμης. Οι αιμοσφαιρίνες του ενηλίκου ατόμου διαφέρουν από τις αντίστοιχες του εμβρύου. Η κύρια αιμοσφαιρίνη κατά την εμβρυϊκή ηλικία είναι η αιμοσφαιρίνη F (HbF) με σύσταση $\alpha_2\gamma_2$, δηλαδή αποτελείται από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες α και από δύο γ . Κατά την ενήλικη ζωή η κύρια αιμοσφαιρίνη είναι η HbA με σύσταση $\alpha_2\beta_2$, ενώ ανιχνεύονται και μικρές ποσότητες μιας άλλης αιμοσφαιρίνης, της HbA₂, με σύσταση $\alpha_2\delta_2$. Τα ενήλικα άτομα επίσης συνθέτουν πολύ μικρή ποσότητα (λιγότερο από 1%) της HbF.

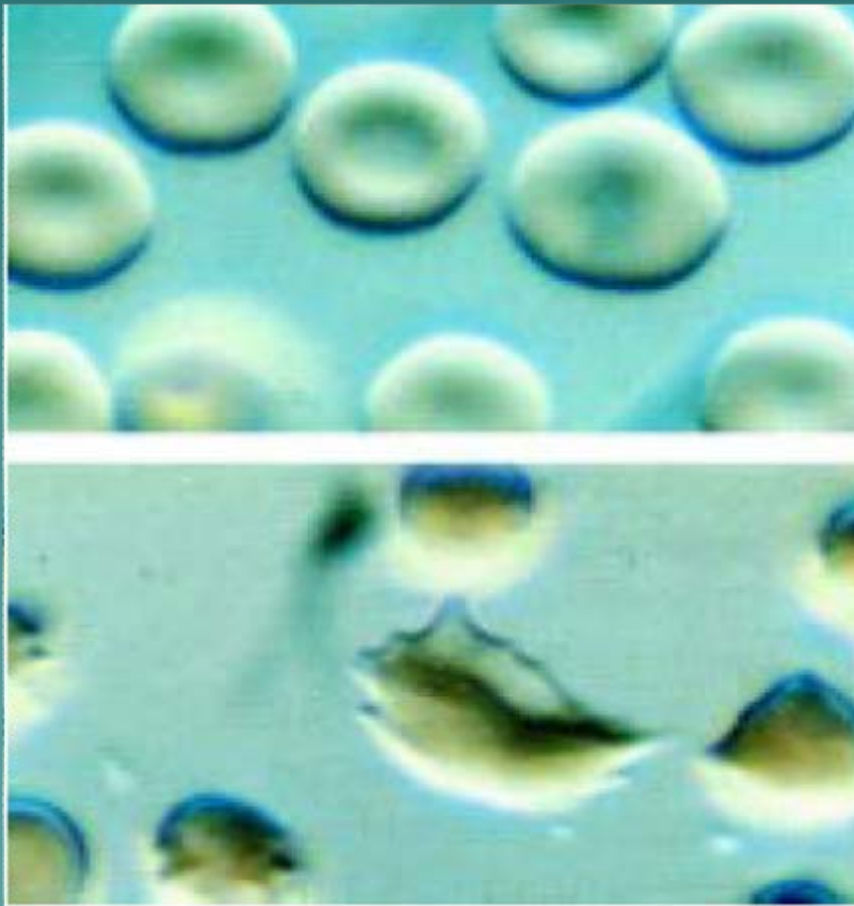
Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις αλυσίδες των αιμοσφαιρινών εμφανίζουν πολλές μεταλλάξεις, που οδηγούν στη δημιουργία αιμοσφαιρινοπαθειών. Στο γονίδιο της πολυπεπτιδικής αλυσίδας β έχουν βρεθεί περισσότερες από 300 διαφορετικές μεταλλάξεις. Εάν μια μετάλλαξη επηρεάζει αμινοξέα σημαντικά για τη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης, όπως αυτά που βρίσκονται κοντά στην περιοχή πρόσδεσης της αίμης, τότε δημιουργείται σοβαρό πρόβλημα για τον οργανισμό. Υπάρχουν όμως και μεταλλάξεις που περνούν σχεδόν απαρατήρητες ή που δημιουργούν μόνον ήπια αναιμία. Τέτοιες είναι οι μεταλλάξεις που αφορούν περιοχή της αλυσίδας που δεν είναι σημαντική για τη λειτουργία του μορίου.

Μια από τις σοβαρότερες αιμοσφαιρινοπάθειες είναι η θαλασσαιμία, που οφείλεται σε ελαττωμένη σύνθεση είτε των α είτε των β αλυσίδων και οδηγεί αντίστοιχα σε α - ή β -θαλασσαιμία. Η **β -θαλασσαιμία** χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια, δηλαδή προκαλείται από πολλά διαφορετικά είδη γονιδιακών μεταλλάξεων όπως αντικαταστάσεις, ελλείψεις και προσθήκες βάσεων. Τα συμπτώματα της ασθένειας διαφέρουν ως προς τη βαρύτητα μεταξύ διαφόρων ατόμων και σχετίζονται με το είδος της μετάλλαξης που τα προκαλεί. 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).

Τα ομόζυγα άτομα με β -θαλασσαιμία εμφανίζουν σοβαρή αναιμία. Η αντιμετώπιση γίνεται με συχνές μεταγγίσεις αίματος, οι οποίες όμως σταδιακά δημιουργούν πρόβλημα λόγω της υπερφόρτωσης του οργανισμού με σίδηρο. Το πρόβλημα αυτό αντιμετωπίζεται με φαρμακευτική αγωγή (αποσιδήρωση). Στα ομόζυγα άτομα παρατηρείται σε πολλές περιπτώσεις αύξηση της HbF, η οποία υποκαθιστά μερικώς τη λειτουργία της HbA. Τα ετερόζυγα άτομα- φορείς- εμφανίζουν ήπια αναιμία και αυξημένη σύνθεση HbA₂, η οποία αποτελεί διαγνωστικό δείκτη. Η ασθένεια κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Συνεπώς, όταν και οι δύο γονείς είναι φορείς της ασθένειας, ο κίνδυνος εμφάνισης της β -θαλασσαιμίας στους απογόνους τους είναι 25%.



Τι γνωρίζεται για τη δρεπανοκυτταρική αναιμία;




Φυσιολογικά
ερυθρά
αιμοσφαίρια

Με
δρεπανοκυτταρική
αναιμία

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.

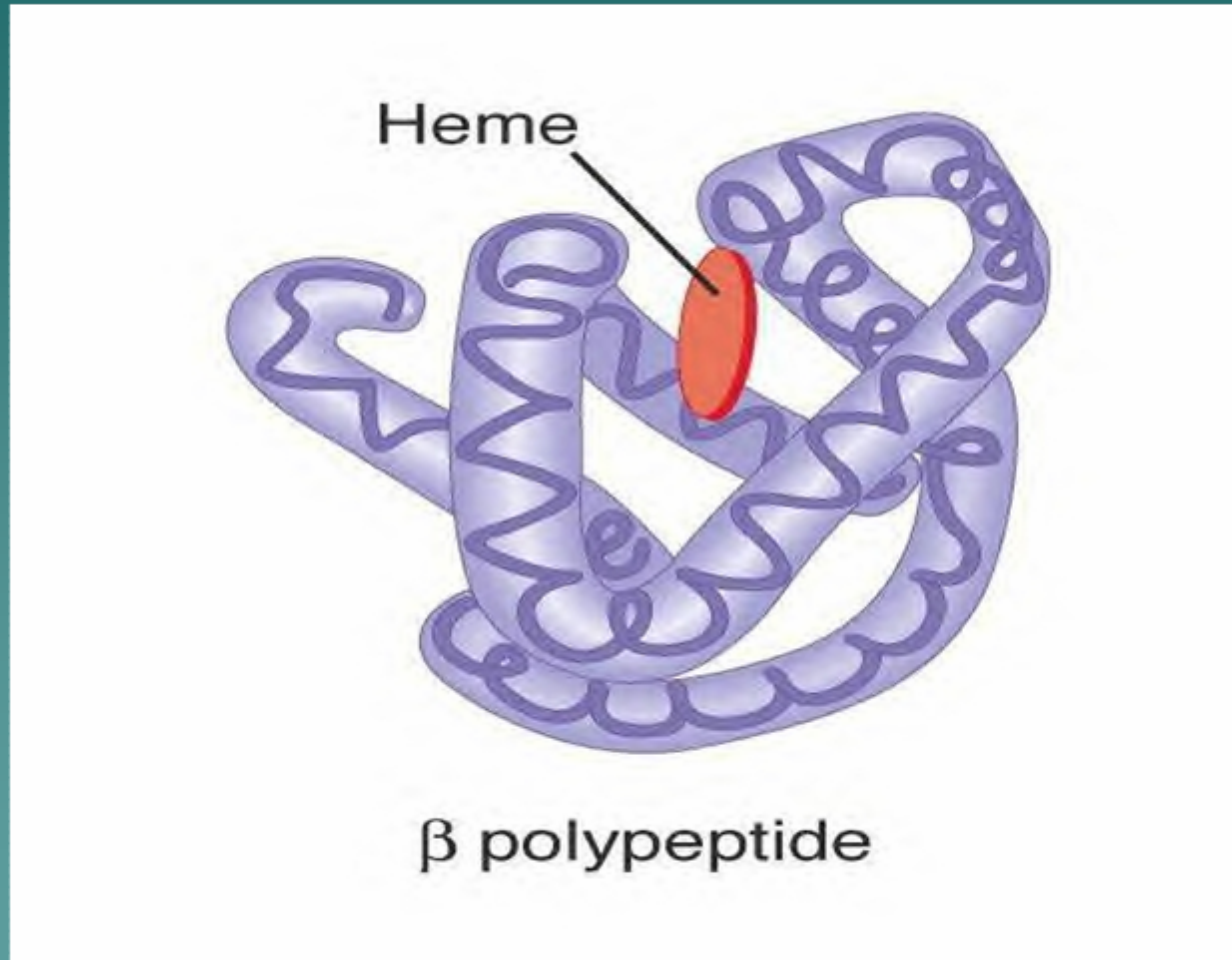
Η διαφορά εντοπίζεται στο έκτο αμινοξύ της β-πολυπεπτιδικής αλυσίδας, όπου το γλουταμινικό οξύ αντικαθίσταται από βαλίνη. Η μεταλλαγμένη αιμοσφαιρίνη συμβολίζεται ως HbS. Η αλλαγή στην ακολουθία των αμινοξέων είναι αποτέλεσμα μίας γονιδιακής μετάλλαξης στην τριπλέτα που κωδικοποιεί το γλουταμινικό οξύ. Στη κωδική αλυσίδα του DNA δηλαδή, αλλάζει μια βάση και το φυσιολογικό κωδικόνιο GAG, που κωδικοποιεί το γλουταμινικό οξύ, αντικαθίστανται από το GTG, που κωδικοποιεί τη βαλίνη. Αυτή η μετάλλαξη οδηγεί σε αλλαγή της στερεοδιάταξης της αιμοσφαιρίνης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της μορφής των ερυθροκυττάρων, τα οποία σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου παίρνουν χαρακτηριστικό δρεπανοειδές σχήμα. Τα δρεπανοκύτταρα εμποδίζουν τη φυσιολογική



κυκλοφορία του αίματος στα τριχοειδή αγγεία δημιουργώντας προβλήματα σε διάφορα όργανα όπως στο σπλήνα και τους πνεύμονες. Τα δρεπανοκύτταρα καταστρέφονται ταχύτερα από τα φυσιολογικά με συνέπεια την εμφάνιση συμπτωμάτων αναιμίας.

Ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία είναι ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο γονίδιο που συμβολίζεται με β^s . Τα άτομα αυτά παράγουν μόνο HbS, και καθόλου HbA. Τα ετερόζυγα άτομα (φορείς), που έχουν ένα φυσιολογικό β γονίδιο και ένα μεταλλαγμένο, και δεν εμφανίζουν τα συμπτώματα της ασθένειας. Στους φορείς προκαλείται δρεπάνωση μόνο σε συνθήκες μεγάλης έλλειψης οξυγόνου, όπως σε υψόμετρο άνω των 3.000 m.

Τι γνωρίζετε για τη β-θαλασσαιμία;



Μια από τις σοβαρότερες αιμοσφαιρινοπάθειες είναι η θαλασσαιμία. που οφείλεται σε ελαττωμένη σύνθεση είτε των α είτε των β αλυσίδων και οδηγεί αντίστοιχα σε α - ή β -θαλασσαιμία. Η **β -θαλασσαιμία** χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια, δηλαδή προκαλείται από πολλά διαφορετικά είδη γονιδιακών μεταλλάξεων όπως αντικαταστάσεις, ελλείψεις και προσθήκες βάσεων. Τα συμπτώματα της ασθένειας διαφέρουν ως προς τη βαρύτητα μεταξύ διαφόρων ατόμων και σχετίζονται με το είδος της μετάλλαξης που τα προκαλεί. 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).

Τα ομόζυγα άτομα με β -θαλασσαιμία εμφανίζουν σοβαρή αναιμία. Η αντιμετώπιση γίνεται με συχνές μεταγγίσεις αίματος, οι οποίες όμως σταδιακά δημιουργούν πρόβλημα λόγω της υπερφόρτωσης του οργανισμού με σίδηρο. Το πρόβλημα αυτό αντιμετωπίζεται με φαρμακευτική αγωγή (αποσιδήρωση). Στα ομόζυγα άτομα παρατηρείται σε πολλές περιπτώσεις αύξηση της HbF, η οποία υποκαθιστά μερικώς τη λειτουργία της HbA. Τα ετερόζυγα άτομα- φορείς- εμφανίζουν ήπια αναιμία και αυξημένη σύνθεση HbA₂, η οποία αποτελεί διαγνωστικό δείκτη. Η ασθένεια κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Συνεπώς, όταν και οι δύο γονείς είναι φορείς της ασθένειας, ο κίνδυνος εμφάνισης της β -θαλασσαιμίας στους απογόνους τους είναι 25%.

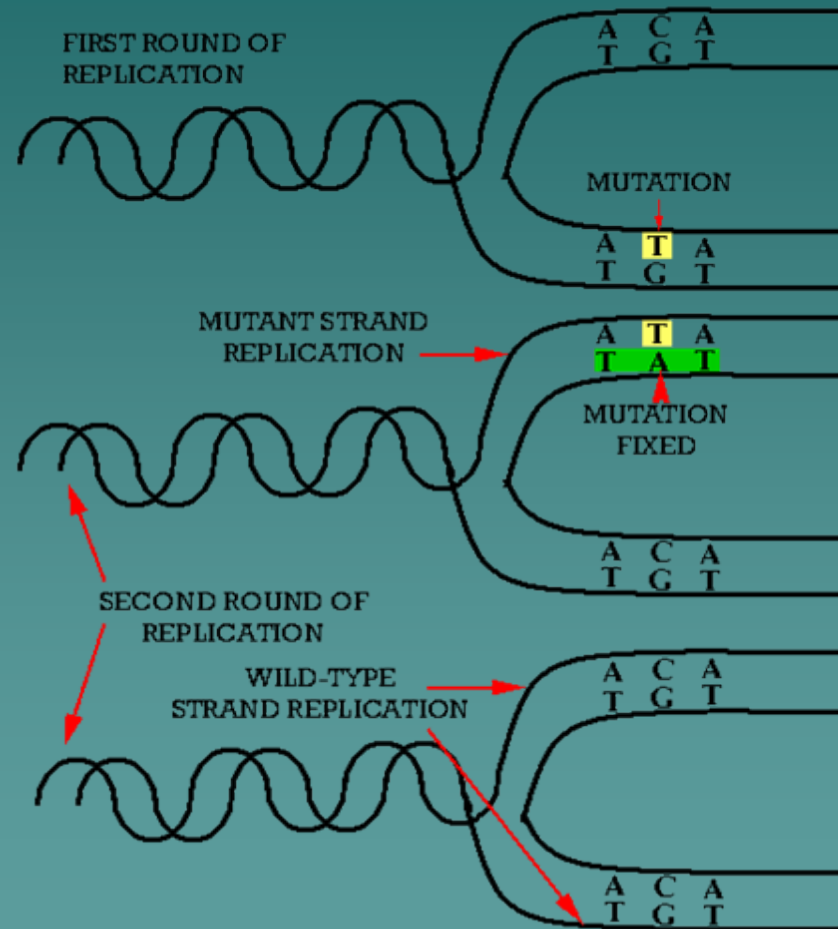
Η συχνότητα των ετερόζυγων ατόμων με δρεπανοκυτταρική αναιμία και β-θαλασσαιμία είναι αυξημένη σε περιοχές όπως οι χώρες της Μεσογείου, της Δυτικής και Ανατολικής Αφρικής και της Ν. Α. Ασίας, όπου εμφανιζόταν ελονοσία. Η αυξημένη συχνότητα οφείλεται στην ανθεκτικότητα των φορέων στην προσβολή από το πρωτόζωο που προκαλεί την ελονοσία, επειδή τα ερυθροκύτταρά τους δεν ευνοούν τον πολλαπλασιασμό του. Συνεπώς, η προστασία που προσδίδει η μετάλλαξη ως προς την ελονοσία αποτελεί ένα πλεονέκτημα, που τους παρέχει αυξημένη πιθανότητα επιβίωσης και δυνατότητα αναπαραγωγής.



Ποια είναι η σημαντική ιδιαιτερότητα του γονιδίου που είναι υπεύθυνο για τη σύνθεση της α – πολυπεπτιδικής αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης (α-γονίδιο);


Τα γονίδια που κωδικοποιούν την α- πολυπεπτιδική αλυσίδα είναι διπλά δηλαδή υπάρχουν δύο γονίδια α σε κάθε ομόλογο χρωμόσωμα. Η α-θαλασσαιμία είναι αποτέλεσμα, σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, ελλείψεων ολόκληρου του γονιδίου που κωδικοποιεί την πολυπεπτιδική αλυσίδα α. Εφόσον σε κάθε άτομο υπάρχουν συνολικά τέσσερα γονίδια α, ελλείψεις μπορεί να δημιουργηθούν σε ένα, δύο, τρία, ή και στα τέσσερα από αυτά τα γονίδια. Όσο περισσότερα γονίδια α λείπουν τόσο βαρύτερα είναι τα συμπτώματα της ασθένειας. Η έλλειψη των γονιδίων α επηρεάζει όλες τις αιμοσφαιρίνες του ανθρώπου, επειδή η πολυπεπτιδική αλυσίδα α αποτελεί συστατικό όλων των αιμοσφαιρινών.

Τι είναι η φαινουλκετονουρία;



Οι μεταβολικές οδοί στον άνθρωπο ακολουθούν ορισμένα στάδια, καθένα από τα οποία ελέγχεται από κάποιο ένζυμο. Έχουν περιγραφεί περίπου 200 διαταραχές του μεταβολισμού, οι οποίες αφορούν κυρίως τη λειτουργικότητα ενζύμων. Η δημιουργία μεταλλάξεων σε γονίδια που κωδικοποιούν κάποια από αυτά τα ένζυμα προκαλεί διάφορες κληρονομικές ασθένειες όπως η φαινυλκετονουρία και ο αλφισμός, οι οποίες κληρονομούνται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας.

Η **φαινυλκετονουρία (PKU)** είναι μία ασθένεια η οποία προκαλείται από την έλλειψη του ενζύμου που στα φυσιολογικά άτομα μετατρέπει το αμινοξύ φαινυλαλανίνη σε τυροσίνη, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση φαινυλαλανίνης. Στα άτομα που είναι ομόζυγα για το υπολειπόμενο μεταλλαγμένο γονίδιο παρεμποδίζεται η φυσιολογική ανάπτυξη και λειτουργία των κυττάρων του εγκεφάλου, με συνέπεια τη διανοητική καθυστέρηση. Εάν η ασθένεια ανιχνευθεί νωρίς, κατά τη νεογνική ηλικία, τότε η εμφάνιση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με αυτήν μπορεί να αποφευχθεί με τη χρησιμοποίηση, εφ' όρου ζωής, κατάλληλου διαιτολογίου με περιορισμένη ποσότητα φαινυλαλανίνης.



Τι γνωρίζετε για τον αλφισμό;




Ο **αλφισμός** οφείλεται στην έλλειψη ενός ενζύμου, το οποίο είναι απαραίτητο για το σχηματισμό της χρωστικής μελανίνης. Στα άτομα που πάσχουν από αλφισμό υπάρχει έλλειψη της χρωστικής στο δέρμα, στα μαλλιά και στην ίριδα του οφθαλμού. Ο αλφισμός εμφανίζει ετερογένεια, δηλαδή άλλα άτομα εμφανίζουν παντελή έλλειψη ενεργότητας του ενζύμου, ενώ άλλα εμφανίζουν μειωμένη ενεργότητα.

Ποιες είναι οι κατηγορίες των χρωμοσωμικών ανωμαλιών και ποια είναι τα αποτελέσματα που προκαλούν;



Οπως έχουμε ήδη αναφέρει, οι μεταλλάξεις είναι αλλαγές στην ακολουθία και στον αριθμό των βάσεων στο γονιδίωμα ενός οργανισμού. Οι μεγάλες σε έκταση αλλαγές αποτελούν ασχρωμοσωμικές ανωμαλίες. Η ανάλυση των χρωμοσωμικών ανωμαλιών έγινε δυνατή μετά την ανάπτυξη τεχνικών που επιτρέπουν την παρατήρηση και τη λεπτομερή μελέτη των χρωμοσωμάτων. Οι αλλαγές στον αριθμό των χρωμοσωμάτων ονομάζονται **αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες**, ενώ οι αλλαγές στη δομή αποτελούν τις **δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες**. Οι αλλαγές αυτές έχουν συνήθως ως αποτέλεσμα την τροποποίηση του φαινοτύπου του ατόμου.



Ποιες είναι οι κατηγορίες των χρωμοσωμικών ανωμαλιών και ποια είναι τα αποτελέσματα που προκαλούν

A. Τρισωμία 13

B. τρισωμία 18



FIGURE 8-10 **A**, Front and lateral views of the head of a 34-week-old fetus with trisomy 13. This fetus shows pronounced cebocephaly with a keel-shaped head, a flattened nose, abnormal ears, and a reduction of forebrain and upper facial structures. **B**, Rocker-bottom feet from a fetus with trisomy 18. Note the prominent heels and somewhat convex profile of the soles of the feet. **C**, Pronounced radial deviation of hands (club hands) of the same infant as that in **B**. (Courtesy M. Barr, Ann Arbor, Mich.)

C

Aν κατά τη διάρκεια της μειωτικής διαίρεσης δεν πραγματοποιηθεί φυσιολογικά ο διαχωρισμός των ομόλογων χρωμοσωμάτων, ένα φαινόμενο που ονομάζεται **μη-διαχωρισμός**, τότε δημιουργούνται γαμέτες με αριθμό χρωμοσωμάτων μεγαλύτερο ή μικρότερο του φυσιολογικού. Η γονιμοποίηση των μη φυσιολογικών γαμετών, έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ζυγωτού με «λανθασμένη» ποσότητα γενετικού υλικού, το οποίο δεν αναπτύσσεται φυσιολογικά. Τα άτομα που προκύπτουν και έχουν περίσσεια ή έλλειψη μικρού αριθμού χρωμοσωμάτων ονομάζονται **ανευπλοειδή**. Η απουσία ενός μόνο χρωμοσώματος ονομάζεται **μονοσωμία**, ενώ η ύπαρξη ενός επιπλέον **τρισωμία**. Η μονοσωμία είναι συνήθως θανατηφόρος για τον οργανισμό, διότι τα χρωμοσώματα με τα γονίδια που περιέχουν, με εξαίρεση τα φυλετικά, πρέπει να υπάρχουν σε δύο «δόσεις», για να εξασφαλιστεί η σωστή ανάπτυξη του ζυγωτού.

Οι αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες δημιουργούνται στα αυτοσωμικά ή στα φυλετικά χρωμοσώματα. Στη συνέχεια αναφέρονται οι συχνότερα εμφανιζόμενες περιπτώσεις στον άνθρωπο.



Τι γνωρίζετε για το σύνδρομο Down και πως μπορεί να διαγνωστεί; Μπορούν άτομα με φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων να πάσχουν από σύνδρομο Down;

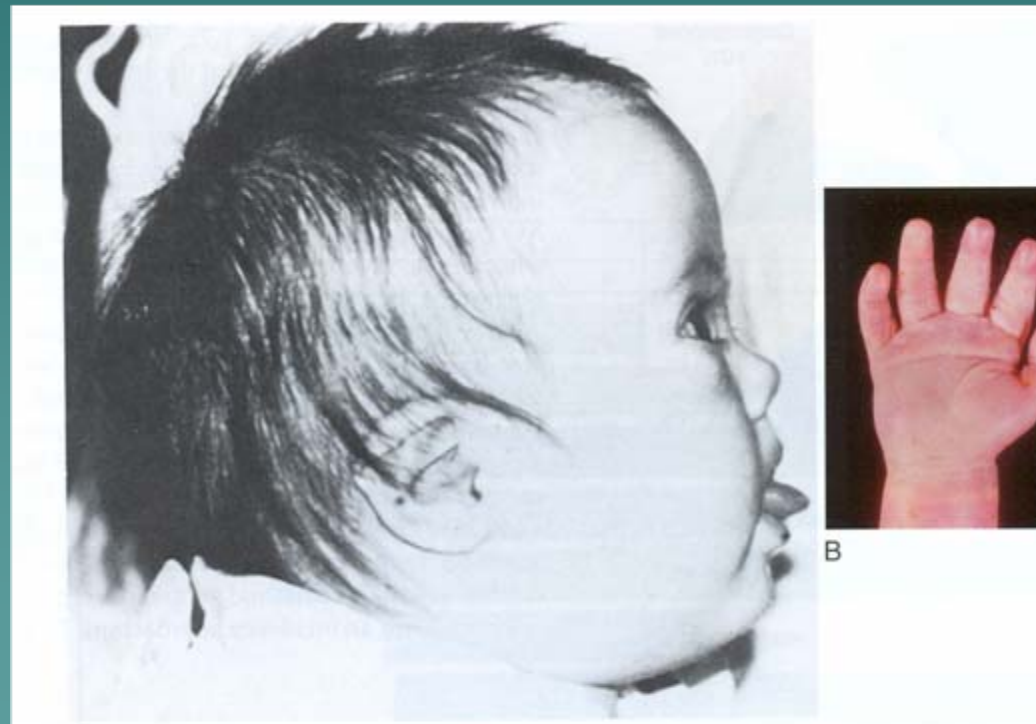



FIGURE 8-9 **A**, Profile of a child with Down syndrome. Note the flat profile, protruding tongue, saddle-shaped nose, and low-set ears. **B**, Hand of an infant with Down syndrome, showing the prominent simian crease that crosses the palm. (**A** from Garver K, Marchese S; Genetic counseling for clinicians, Chicago, 1986, Mosby. **B** courtesy M. Barr; Ann Art

Το σύνδρομο **Down** (Τρισωμία 21) είναι η πιο κοινή αριθμητική χρωμοσωμική ανωμαλία. Τα άτομα με σύνδρομο **Down** εμφανίζουν καθυστέρηση στην ανάπτυξη, χαρακτηριστικές δυσμορφίες στο πρόσωπο και διανοητική καθυστέρηση. Στον καρυότυπο των ατόμων που πάσχουν, σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις, εμφανίζεται ένα επιπλέον χρωμόσωμα 21. Η ύπαρξη του επιπλέον χρωμοσώματος είναι αποτέλεσμα μη διαχωρισμού των χρωμοσωμάτων του 21^{ου} ζεύγους κατά την μείωση. Με αυτό τον τρόπο δημιουργείται ωάριο, και σε σχετικά λιγότερες περιπτώσεις σπερματοζωάριο, με δύο χρωμοσώματα 21. Γονιμοποίηση του γαμέτη που έχει το επιπλέον χρωμόσωμα 21 με έναν φυσιολογικό θα δημιουργήσει τρισωμία 21. Η πιθανότητα γέννησης παιδιού με σύνδρομο **Down** σχετίζεται με την ηλικία της μητέρας. Μελέτες δείχνουν ότι μία μέλλουσα μητέρα ηλικίας 45 ετών έχει πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα να αποκτήσει παιδί με σύνδρομο **Down** σε σχέση με μια μέλλουσα μητέρα ηλικίας 19 ετών.

Άλλες σχετικά συχνές αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες που αφορούν τα αυτοσωμικά χρωμοσώματα είναι η τρισωμία 13 και η τρισωμία 18. Τα άτομα που πάσχουν από αυτές εμφανίζουν βαρύτερα συμπτώματα από εκείνα που πάσχουν από σύνδρομο **Down**, πιθανόν επειδή τα χρωμοσώματα 13 και 18 είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος και περιέχουν περισσότερα γονίδια.



Να δώσετε π.χ. αριθμητικών χρωσωμικών ανωμαλιών που αφορούν αυτοσωμικά ζεύγη χρωσωμάτων στον άνθρωπο



(Down)
Τρισωμία 21



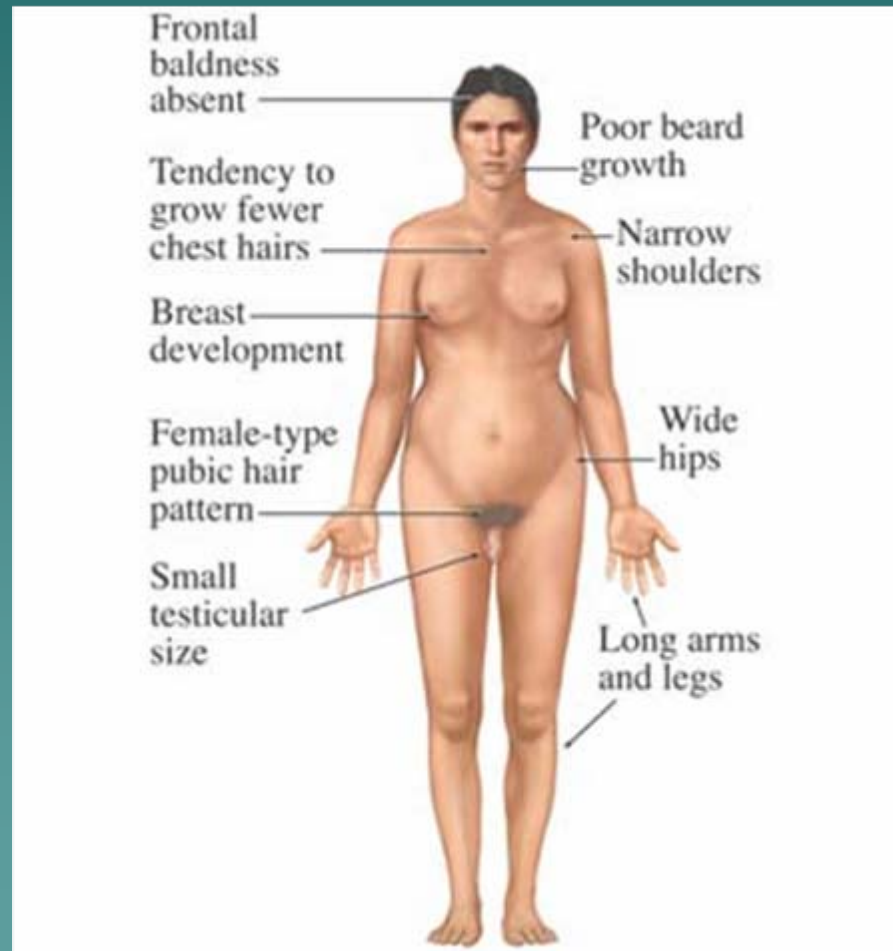
A. Τρισωμία 13

B. τρισωμία 18

Να δώσετε 2 παραδείγματα αριθμητικών
χρωσωμικών ανωμαλιών που αφορούν
το φυλετικό ζεύγος των χρωσωμάτων




Klinefelter

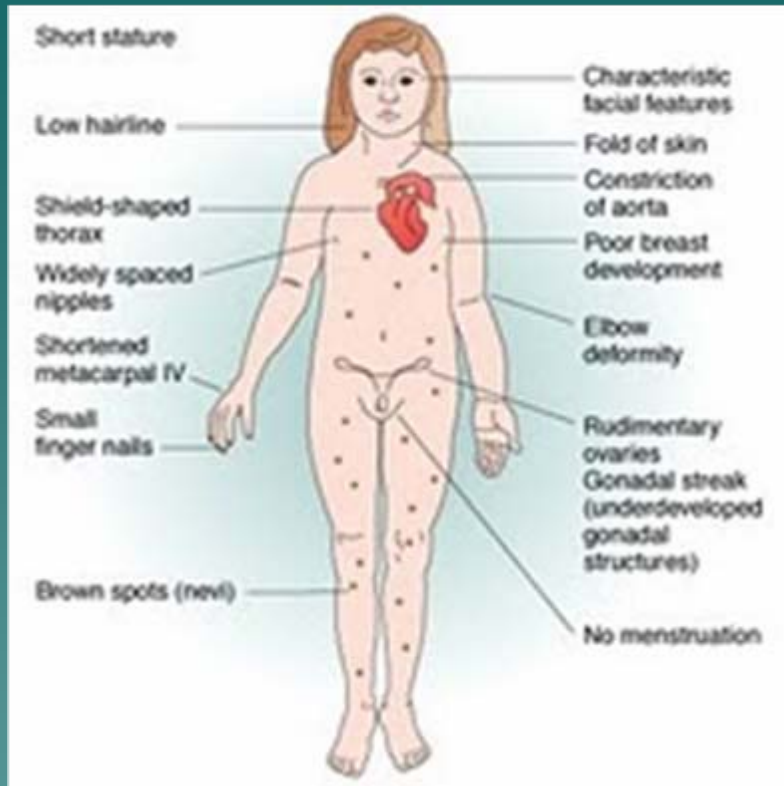


Εκτός από αριθμητικές ανωμαλίες που αφορούν τα αυτοσωμικά χρωμοσώματα παρατηρούνται αριθμητικές ανωμαλίες και στα φυλετικά χρωμοσώματα.

Δύο από τα χαρακτηριστικά σύνδρομα αυτής της κατηγορίας είναι το **σύνδρομο Klinefelter** και το **σύνδρομο Turner**. Τα άτομα με σύνδρομο **Klinefelter** έχουν φυσιολογικό αριθμό αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων (44) και τρία φυλετικά χρωμοσώματα, τα XXY, αντί του φυσιολογικού ζεύγους XY. Τα άτομα αυτά έχουν εξωτερικά χαρακτηριστικά αρσενικού ατόμου είναι όμως στείρα. Τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου εμφανίζονται μετά την εφηβεία.

Τα άτομα που πάσχουν από το σύνδρομο **Turner** έχουν φυσιολογικό αριθμό αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων (44) αλλά μόνο ένα χρωμόσωμα X από το ζεύγος των φυλετικών χρωμοσωμάτων (XO). Αυτή είναι η μοναδική μονοσωμία που έχει βρεθεί στον άνθρωπο. Τα άτομα αυτά δεν εμφανίζουν δευτερογενή χαρακτηριστικά του φύλου παρ' όλο που έχουν φαινότυπο θηλυκού ατόμου και είναι στείρα.

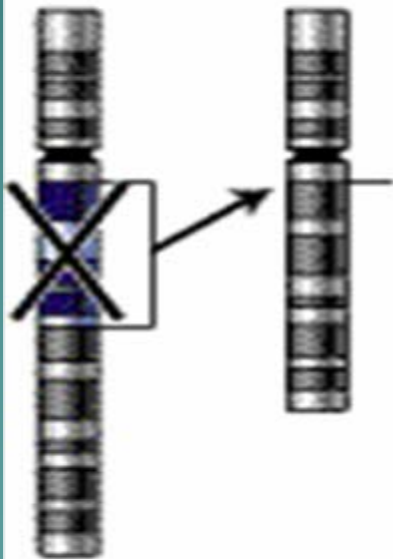




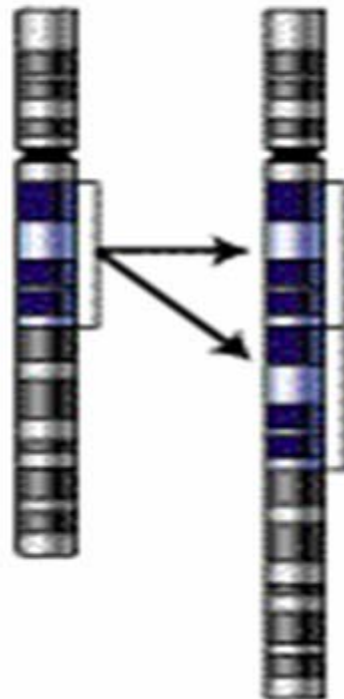
Turner

Ποια είναι τα είδη των δομικών χρωσωμικών ανωμαλιών και πως δημιουργούνται;

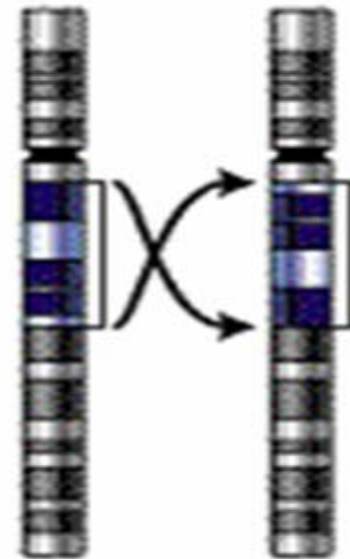
Έλλειψη



Διπλασιασμός



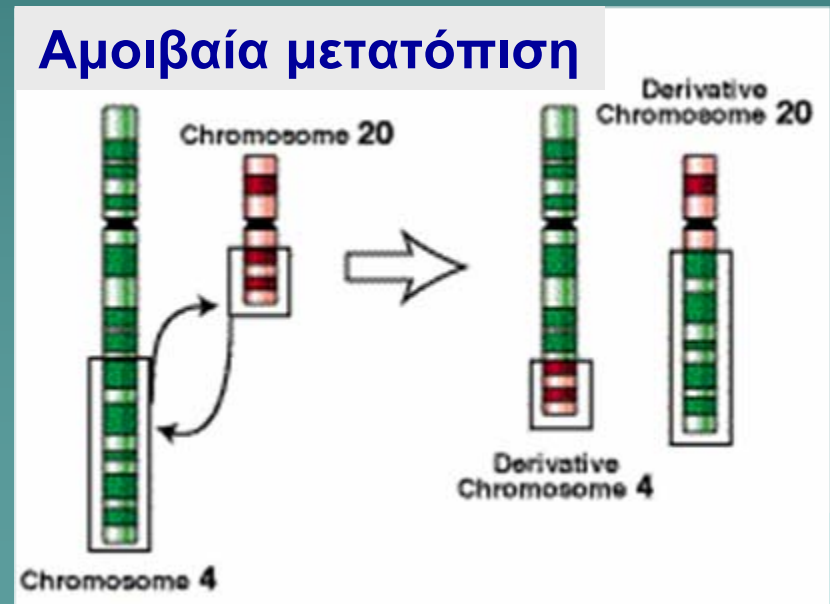
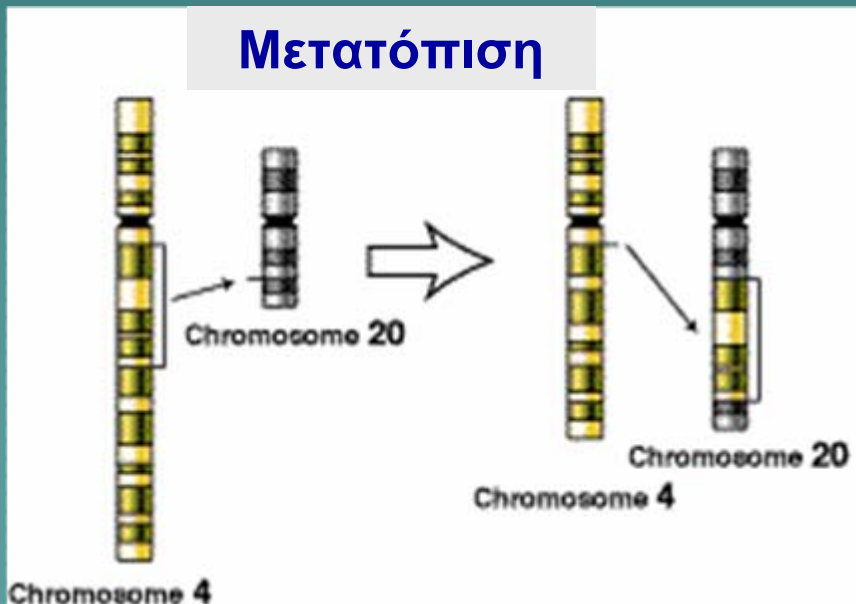
Αναστροφή



Τα είδη των δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Έλλειψη	Απώλεια τμήματος χρωμοσώματος , δηλαδή απώλεια γενετικού υλικού
Διπλασιασμός	Επανάληψη χρωμοσωμικού τμήματος στο ίδιο χρωμόσωμα
Αναστροφή	Θραύση χρωμοσωμικού τμήματος σε 2 σημεία και επανένωσή του στο ίδιο χρωμόσωμα μετά από αναστροφή
Μετατόπιση	Θραύση χρωμοσωμικού τμήματος και ένωσή του σε άλλο, μη ομόλογο χρωμόσωμα
Αμοιβαία μετατόπιση	Αμοιβαία ανταλλαγή χρωμοσωμικών τμημάτων ανάμεσα σε μη ομόλογα χρωμοσώματα

«Στις αμοιβαίες μετατοπίσεις δεν χάνεται γενετικό υλικό και τα άτομα που τις φέρουν εμφανίζουν συνήθως φυσιολογικό φαινότυπο». Συμφωνείτε με την παραπάνω διαπίστωση; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.



Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι αλλαγές στη δομή ενός ή περισσότερων χρωμοσωμάτων. Οι δομικές αλλαγές στο χρωμόσωμα μπορεί να αφορούν, μερικά γονίδια ή ένα μεγάλο τμήμα του χρωμοσώματος. Η δημιουργία δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών είναι αποτέλεσμα διάφορων μηχανισμών κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου. Για παράδειγμα, η θραύση τμήματος από ένα ή περισσότερα χρωμοσώματα και στη συνέχεια η λανθασμένη επανένωσή του μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα έλλειψη, μετατόπιση ή κάποια άλλη αναδιάταξη των γονιδίων στο χρωμόσωμα. Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι αποτέλεσμα της δράσης μεταλλαξογόνων παραγόντων όπως οι ακτινοβολίες και οι διάφορες χημικές ουσίες.

Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες έχουν ως αποτέλεσμα της αλλαγής στην ποσότητα ή στη διάταξη της γενετικής πληροφορίας στα χρωμοσώματα. Ανάλογα με το τύπο της αλλαγής διακρίνονται διάφορα είδη δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών



Τι γνωρίζετε για το σύνδρομο
φωνή της γάτας (cri – du - chat) και
πως μπορεί να διαγνωστεί αυτό;



Η έλλειψη είναι η απώλεια γενετικού υλικού. Το **σύνδρομο φωνή της γάτας (cri-du-chat)** οφείλεται στην έλλειψη ενός μεγάλου τμήματος του μικρού βραχίονα από το χρωμόσωμα 5. Το σύνδρομο ονομάζεται έτσι, γιατί το κλάμα των νεογέννητων που πάσχουν μοιάζει με το κλάμα της γάτας. Τα άτομα που πάσχουν από το συγκεκριμένο σύνδρομο εμφανίζουν διανοητική καθυστέρηση.



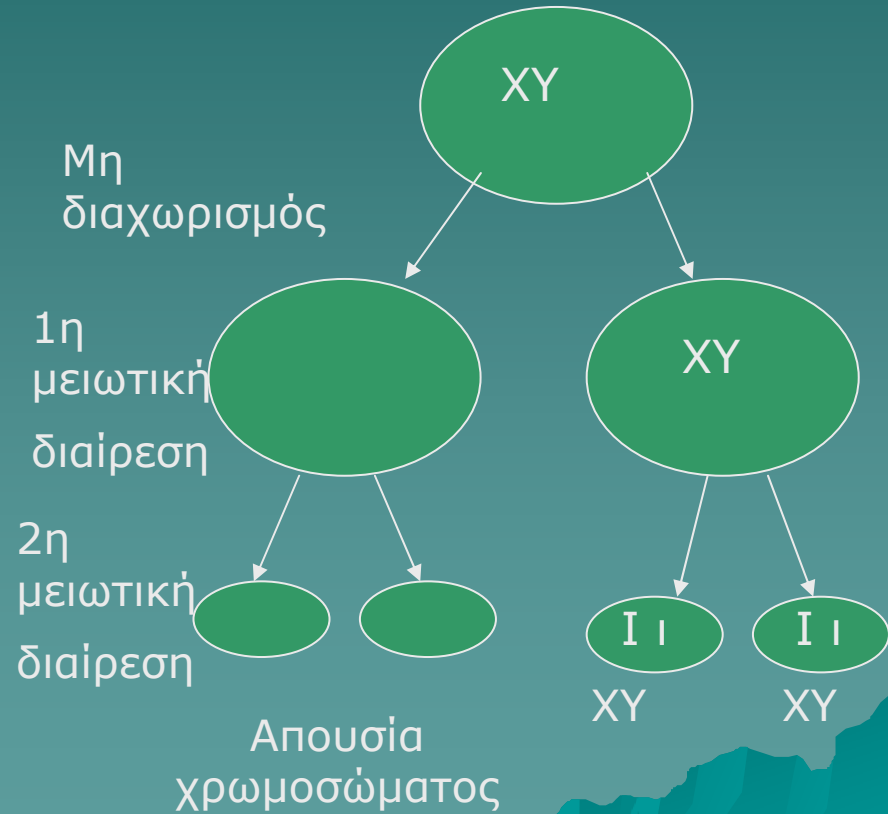
Άσκηση 1

Από φυσιολογικούς γονείς γεννιέται παιδί με σύνδρομο Turner. Μπορείτε να εξηγήσετε πως συνέβη το γεγονός αυτό;

Το σύνδρομο Turner (ΧΟ) είναι μια χρωμοσωμική ανωμαλία που αφορά τον αριθμό των φυλετικών χρωμοσωμάτων. Το άτομο αυτό έχει 1 **X** χρωμόσωμα, αντί του φυσιολογικού που είναι να έχει ζεύγος φυλετικών χρωμοσωμάτων.

Το χρωμόσωμα X που έχει το παιδί μπορεί να είναι μητρικής ή και πατρικής προέλευσης, άρα το λάθος στη μείωση μπορεί να έγινε είτε στον πατέρα είτε στη μητέρα.

Εάν το λάθος έγινε στον πατέρα και στην 1^η μειωτική του διαίρεση τότε:



Οι παραπάνω γαμέτες του πατέρα (σπερματοζωάρια) συντήκονται με φυσιολογικούς γαμέτες (ωάρια) της μητέρας και τα αποτελέσματα φαίνονται με βάση το τετράγωνο του Punnett.

P: $XX \times XY$

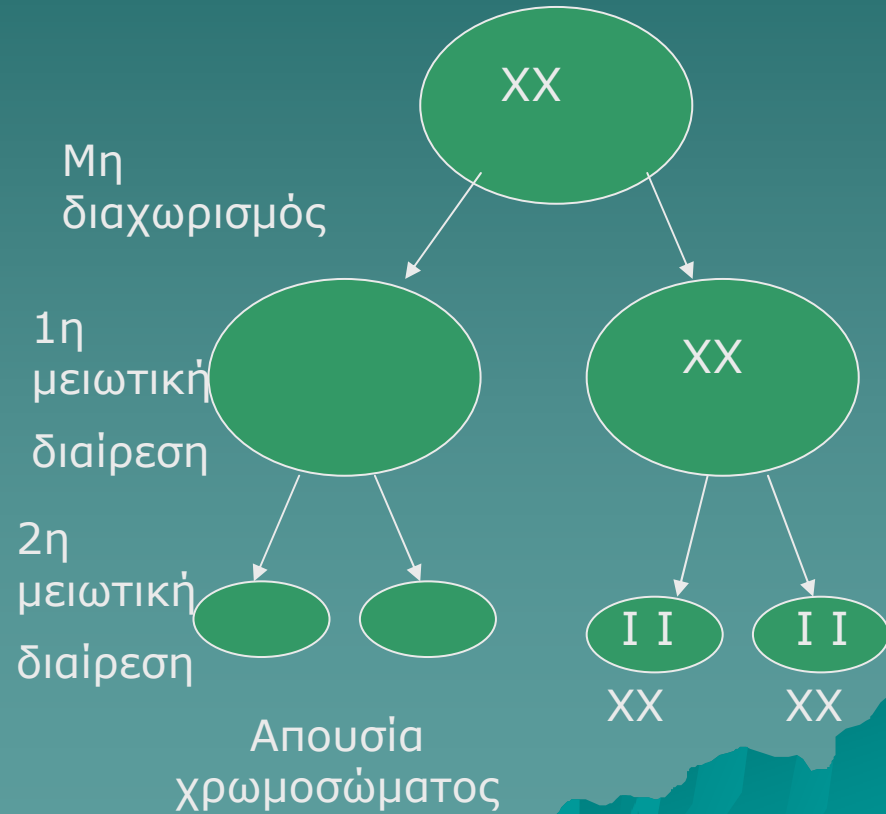
Γαμέτες: $X, X \quad XY, O$

Θ \ A	XY	O
X	XXY	XO
X	XXY	XO

50% Klinefelter
50% Turner

Εάν το λάθος έγινε στη μητέρα και στην 1^η μειωτική της διαίρεση, έχουμε:

Άσκηση: Δείξτε το αντίστοιχο λάθος στη 2^η μειωτική διαίρεση για τη μητέρα με τη βοήθεια του τετραγώνου του Punnett



Οι παραπάνω γαμέτες της μητέρα (ωάρια) συντήκονται με φυσιολογικούς γαμέτες (σπερματοζωάρια) του πατέρα και τα αποτελέσματα φαίνονται με βάση το τετράγωνο του Punnett.

P: $XX \times XY$

Γαμέτες: $XX, O \quad X, Y$

A \ Θ	XX	O
X	XXX	<u>XO</u>
Y	XXY	YO

25% Turner

Σε τι μας βοηθά η διάγνωση των γενετικών ασθενειών και πως αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί



Οι γνώσεις που έχουμε αποκτήσει σε μοριακό επίπεδο για τους μηχανισμούς που δημιουργούν τις γενετικές ασθένειες μας έχουν προσφέρει τη δυνατότητα ανάπτυξης μεθόδων με τις οποίες ανιχνεύουμε γενετικές ανωμαλίες στα μέλη μίας οικογένειας ή στα άτομα ενός πληθυσμού. Η διάγνωση των γενετικών ασθενειών μας βοηθά:

- Στον όσο το δυνατόν πιο έγκαιρο εντοπισμό γενετικών ανωμαλιών στα άτομα που εξετάζονται,
- Στον εντοπισμό των φορέων κληρονομικών γενετικών ασθενειών,
- Στον προσδιορισμό της πιθανότητας εμφάνισης μιας γενετικής ασθένειας στους απογόνους μιας οικογένειας στην οποία έχει παρουσιαστεί μια κληρονομική ασθένεια.

Η έγκαιρη διάγνωση μιας γενετικής ασθένειας προσφέρει τη δυνατότητα σχεδιασμού θεραπευτικής αγωγής, έτσι που να ελαχιστοποιούνται οι επιπλοκές της ασθένειας όπως στην περίπτωση της φαινυλκετονουρίας (PKU). Ο έλεγχος για τον εντοπισμό των πιθανών φορέων, όπως στις περιπτώσεις της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας και των θαλασσαιμιών, πραγματοποιείται με σκοπό τον υπολογισμό της πιθανότητας δημιουργίας απογόνων που πάσχουν από τις συγκεκριμένες κληρονομικές ασθένειες. Ακόμα, στην περίπτωση διάγνωσης γενετικών ανωμαλιών κατά τη διενέργεια του προγεννητικού ελέγχου δίνεται η δυνατότητα διακοπής της κύησης.

Η διάγνωση των γενετικών ασθενειών μπορεί να πραγματοποιηθεί.

- Με τη μελέτη του καρυοτύπου, όπως για παράδειγμα κατά τον προγεννητικό έλεγχο,
- Με διάφορες βιοχημικές δοκιμασίες
- Με την ανάλυση της αλληλουχίας των βάσεων του DNA (μοριακή διάγνωση).

Σύνδρομο Down	Ανάλυση καρυότυπου
Σύνδρομο Klinefelter	Ανάλυση καρυότυπου
Σύνδρομο Turner	Ανάλυση καρυότυπου
Σύνδρομο Patau (τρις 13)	Ανάλυση καρυότυπου
Σύνδρομο Edwards (τρις 18)	Ανάλυση καρυότυπου
Ρετινοβλάστωμα	Ανάλυση καρυότυπου
Φαιτυλκετονουρία	Βιοχημικές μέθοδοι
Κυστική ίνωση	Ανάλυση DNA (PCR)
Έλλειψη α1-αντιθρυψίνης	Ανάλυση DNA (PCR)
Αιμορροφιλία Α	Ανάλυση DNA (PCR)
Αιμορροφιλία Β	Ανάλυση DNA (PCR)
Δρεπανοκυτταρική αναιμία	Ανάλυση DNA (PCR)
β-θαλασσαιμία	Ανάλυση DNA (PCR)
α-θαλασσαιμία	Ανάλυση DNA (PCR)

Με ποιους τρόπους μπορεί να διαγνωσθεί
η δρεπανοκυτταρική αναιμία και η
φαιθυλκετονουρία;

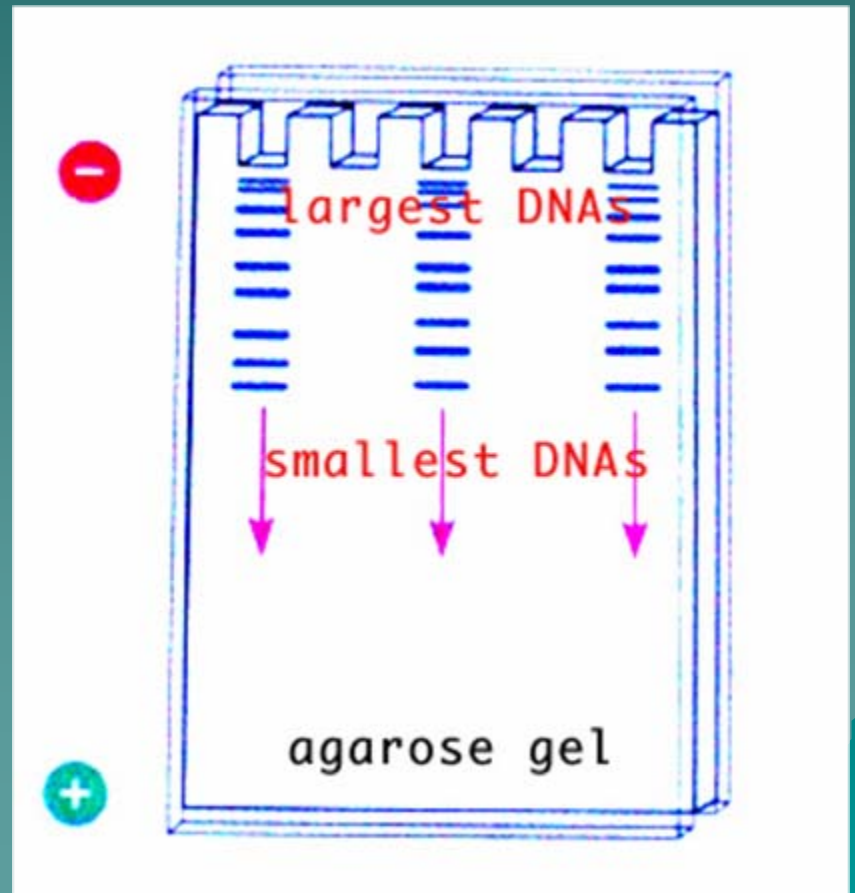
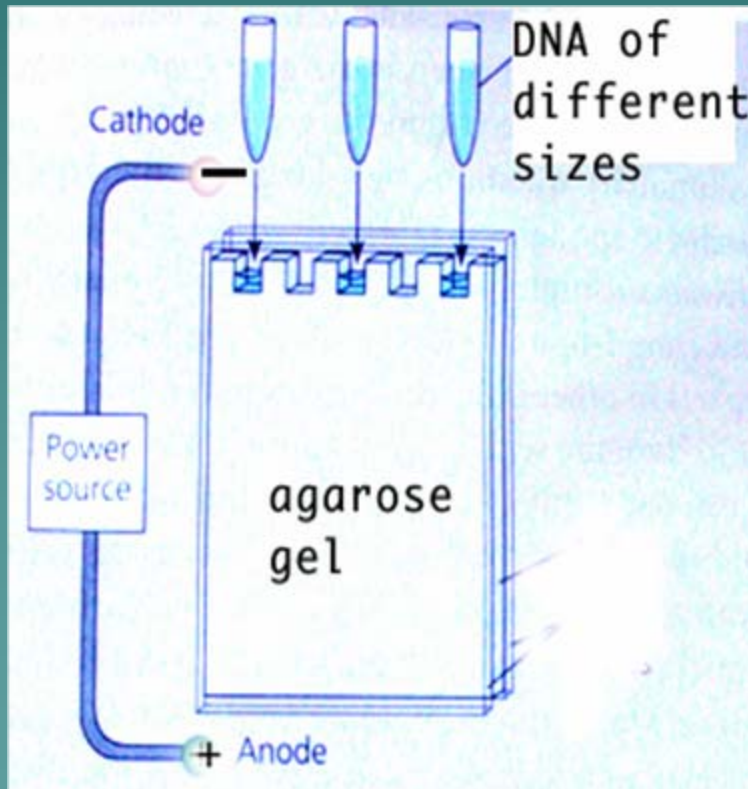


Η εφαρμογή προγράμματος ελέγχου των νεογνών για την φαινυλκετονουρία έχει μειώσει σημαντικά τις περιπτώσεις διανοητικής καθυστέρησης από αυτή την ασθένεια. Ο έλεγχος για τη φαινυλκετονουρία πραγματοποιείται με τον υπολογισμό της συγκέντρωσης της φαινυλαλανίνης στο αίμα των νεογέννητων.

Η δρεπανοκυτταρική αναιμία είναι μία από τις λίγες γενετικές ασθένειες της οποίας ο μηχανισμός δημιουργίας έχει μελετηθεί διεξοδικά. Αυτό μας δίνει τη δυνατότητα διάγνωσης της ασθένειας με τη χρησιμοποίηση πολλών διαφορετικών τεχνικών. Μια από αυτές είναι η παρατήρηση της μορφολογίας των ερυθρών κυττάρων σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου. Στην περίπτωση όπου το άτομο πάσχει, τα ερυθροκύτταρά του παίρνουν δρεπανοειδές σχήμα (δοκιμασία δρεπάνωσης). Για τη διάγνωση της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας χρησιμοποιούνται επίσης τεχνικές που επιτρέπουν τον προσδιορισμό της αιμοσφαιρίνης HbS στα ερυθροκύτταρα όπως και τον εντοπισμό του μεταλλαγμένου γονιδίου β^S



Πως μπορεί να διαγνωστεί η β-θαλασσαιμία μεταγεννητικά;



Μεταγεννητικά η διάγνωση φορέων ή και ασθενών της β-θαλασσαιμίας μπορεί να γίνει με ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης. Στους φορείς (και ασθενείς) η ποσότητα της αιμοσφαιρίνης A2 είναι μεγαλύτερη του φυσιολογικού.

Προγεννητικά η διάγνωση της β-θαλασσαιμίας μπορεί να γίνει με λήψη εμβρυϊκών κυττάρων, απομόνωση του DNA από αυτά και ανάλυσή του προκειμένου να εντοπιστούν στο έμβρυο οι μεταλλάξεις που οι γονείς έχουν. Βέβαια, με ανάλυση DNA μπορεί να γίνει διάγνωση και μεταγεννητικά από κύτταρα του αίματος. Σε ορισμένες περιπτώσεις, στα ομόζυγα άτομα παρατηρείται αύξηση της αιμοσφαιρίνης F

Τι είναι η γενετική καθοδήγηση;
Από ποιους και σε ποιους θα
πρέπει να γίνεται;



Η γενετική καθοδήγηση είναι μία διαδικασία κατά την οποία ειδικοί επιστήμονες δίνουν πληροφορίες σε μεμονωμένα άτομα, ζευγάρια και οικογένειες που πάσχουν από κάποια γενετική ασθένεια ή έχουν αυξημένες πιθανότητες να την εμφανίσουν. Οι πληροφορίες αυτές είναι απαραίτητες για τους ενδιαφερόμενους, γιατί τους βοηθούν στη λήψη αποφάσεων, κυρίως σχετικό με την απόκτηση υγιών απογόνων.

Ο ειδικός επιστήμονας είναι σε θέση να συμβουλέψει τους ενδιαφερόμενους, μόνο όταν διαθέτει τα απαραίτητα στοιχεία που του επιτρέπουν να γνωρίζει τη συγκεκριμένη γενετική ασθένεια, τη συχνότητα εμφάνισής της, τον τρόπο με τον οποίο κληρονομείται, τις επιπτώσεις στα άτομα που πάσχουν από αυτή, τους τρόπους αντιμετώπισης της κ.ά. Αν, για παράδειγμα, διαπιστωθεί ότι δύο γονείς είναι ετερόζυγοι για το γονίδιο β^s , τότε ο σύμβουλος πληροφορεί τους μελλοντικούς γονείς ότι υπάρχει 25% πιθανότητα να αποκτήσουν παιδί που πάσχει από δρεπανοκυτταρική αναιμία.


Αν, όπως στο προηγούμενο παράδειγμα, υπάρχει αυξημένη πιθανότητα το έμβρυο να πάσχει από κάποια ανωμαλία, τότε είναι απαραίτητη η διενέργεια προγεννητικού ελέγχου. Με βάση τα αποτελέσματα του προγεννητικού ελέγχου καλούνται οι γονείς να αποφασίσουν, στην περίπτωση που το έμβρυο πάσχει από σοβαρή γενετική ανωμαλία, τη διακοπή της κύησης.

Για ποιους λόγους πιστεύετε ότι οι γυναίκες με πολλαπλές αποβολές πρέπει να καταφεύγουν σε γενετική συμβουλή;



Η απόφαση για διακοπή ή μη της κύησης επηρεάζεται και από άλλες παραμέτρους, που διαφέρουν από κοινωνία σε κοινωνία και μπορεί να σχετίζονται με τις θρησκευτικές αντιλήψεις, ηθικές παραμέτρους κ.ά

Παρ' ότι γενετική καθοδήγηση μπορεί να ζητήσουν όλοι οι υποψήφιοι γονείς, υπάρχουν ομάδες ατόμων οι οποίες είναι απαραίτητο να απευθυνθούν σε ειδικούς πριν προχωρήσουν στην απόκτηση απογόνων. Σ' αυτές περιλαμβάνονται:

- Άτομα φορείς γενετικών ασθενειών
 - Άτομα με οικογενειακό ιστορικό γενετικών ασθενειών
 - Γυναίκες ηλικίας 35 ετών και άνω
 - Γυναίκες με πολλαπλές αποβολές.
- 

Για ποιες ασθένειες και με ποιους τρόπους
μπορεί να γίνει προγεννητικός έλεγχος;



Στις περιπτώσεις που υπάρχει αυξημένη πιθανότητα το έμβρυο να εμφανίσει κάποια γενετική ανωμαλία, τότε επιβάλλεται ο προγεννητικός έλεγχος.

Με την **αμνιοπαρακέντηση** λαμβάνεται από τον αμνιακό σάκο, με τη βοήθεια βελόνας, μικρή ποσότητα αμνιακού υγρού. Μέσα σε αυτό βρίσκονται εμβρυικά κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάλυση DNA και την βιοχημική ανάλυση ορισμένων πρωτεϊνών και ενζύμων όπως στην περίπτωση της φαινυλκετονουρίας. Επίσης, ύστερα από καλλιέργεια τα εμβρυικά αυτά κύτταρα χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση χρωμοσωμικών ανωμαλιών, με μελέτη του καρυότυπου. Η αμνιοπαρακέντηση πραγματοποιείται από την 12η-16η εβδομάδα της κύησης και αποτελεί έναν ασφαλή και αξιόπιστο τρόπο διάγνωσης των γενετικών ανωμαλιών (με αμνιοπαρακέντηση μπορεί να ελεγχθεί η ύπαρξη περισσότερων από 100 γενετικών ανωμαλιών).

Εναλλακτική μέθοδος προγεννητικού ελέγχου είναι η λήψη χοριακών λαχνών. Πραγματοποιείται συνήθως την 9η-12η εβδομάδα της κύησης και περιλαμβάνει τη λήψη εμβρυικών κυττάρων από τις προεκβολές (λάχνες) του χόριου (εμβρυική μεμβράνη που συμμετέχει στο σχηματισμό του πλακούντα). Τα κύτταρα από τις χοριακές λάχνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο για τον έλεγχο των χρωμοσωμάτων (καρυότυπος) όσο και για βιοχημικές αναλύσεις και ανάλυση DNA όπως στη δρεπανοκυτταρική αναιμία.

Η αμνιοπαρακέντηση, σε σχέση με την λήψη χοριακών λαχνών, μας δίνει τη δυνατότητα παρασκευής χρωμοσωμάτων καλύτερης ποιότητας. Αντίθετα, η λήψη χοριακών λαχνών δίνει τη δυνατότητα πιο έγκαιρης διάγνωσης.

Στην περίπτωση διάγνωσης, με τον προγεννητικό έλεγχο, σοβαρών γενετικών ανωμαλιών είναι δυνατή η διακοπή της κύησης χωρίς να δημιουργεί πρόβλημα υγείας στη μητέρα.

Να αναφέρετε 3 χαρακτηριστικά των
καρκινικών κυττάρων που τα διαφοροποιεί
από τα άλλα του προσβεβλημένου ιστού

Τα καρκινικά κύτταρα διαφοροποιούνται από τα άλλα κύτταρα εξαιτίας των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών τους:

α) Είναι αποδιαφοροποιημένα (άτυπα) κύτταρα. Αυτό σημαίνει ότι τα κύτταρα έχουν χάσει τον έλεγχο της γονιδιακής τους έκφρασης, με αποτέλεσμα να παράγουν άλλες πρωτεΐνες, σε σχέση με αυτές που παράγουν τα κύτταρα του ιστού από τον οποίο προέρχονται.

β) Έχουν χάσει τον έλεγχο του πολλαπλασιασμού τους, με αποτέλεσμα να πολλαπλασιάζονται με πιο γρήγορους ρυθμούς από τα υπόλοιπα.

γ) Διακρίνονται από υπόλοιπα κύτταρα του ιστού από τους αντιγονικούς καθοριστές που έχουν στην επιφάνεια της κυτταρικής τους μεμβράνης.

Ποια γονίδια ονομάζονται ογκογονίδια και
ποια η σχέση τους με τον καρκίνο;



Ο καρκίνος χαρακτηρίζεται από τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό κυττάρων ενός ιστού. Αυτά σχηματίζουν μάζες κυττάρων (καρκινικοί όγκοι) ή μεταναστεύουν στο αίμα όπως στις διάφορες μορφές λευχαιμιών. Αποτελέσματα μελετών έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι σχεδόν όλες οι περιπτώσεις καρκίνου προέρχονται από μεταλλάξεις γονιδίων σωματικών κυττάρων.

Υπάρχουν δύο τύποι γονιδίων που σχετίζονται με την καρκινογένεση. Τα **ογκογονίδια** και τα **ογκοκατασταλτικά** γονίδια. Τα αποτελέσματα σχετικών ερευνών οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ο καρκίνος σε γενετικό επίπεδο είναι το αποτέλεσμα:

- Μετατροπή πρωτο-ογκογονιδίων σε ογκογονίδια
- Απουσίας λειτουργικότητας ογκοκατασταλτικών γονιδίων και
- Αδρανοποίησης των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA

Τα ογκογονίδια «προέρχονται» από γονίδια που υπάρχουν φυσιολογικά στο ανθρώπινο γονιδίωμα και ονομάζονται **πρωτο-ογκογονίδια**. Για ποιο λόγο όμως το κάθε κύτταρο να φέρει γονίδια τα οποία κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες θα οδηγήσουν στην καταστροφή του; Βρέθηκε ότι όλα τα πρωτο-ογκογονίδια έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική λειτουργία του κυττάρου, ενεργοποιώντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, σε περιπτώσεις που αυτός είναι απαραίτητος όπως στην επούλωση τραυμάτων. Όμως διάφορα είδη μεταλλάξεων, που μπορεί να προκληθούν από μεταλλαξογόνους παράγοντες, μετατρέπουν τα πρωτο-ογκογονίδια σε ογκογονίδια, τα οποία υπερλειτουργούν και οδηγούν το κύτταρο σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και δημιουργία καρκίνου. Η μετατροπή ενός πρωτο-ογκογονιδίου σε ογκογονίδιο μπορεί να είναι το αποτέλεσμα μιας σημειακής μετάλλαξης ή μιας χρωμοσωμικής ανωμαλίας, συνηθέστερα μετατόπισης.



ρετινοβλάστωμα

Ποια γονίδια ονομάζονται πρωτο-ογκογονίδια, ποια ογκογονίδια και ποια ογκοκατασταλτικά γονίδια; Ποια είναι η διαφορά μεταξύ ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων; Ποια σχέση υπάρχει μεταξύ των γονιδίων αυτών και του καρκίνου;

Τα πρωτο-ογκογονίδια υπάρχουν φυσιολογικά στο ανθρώπινο γονιδίωμα και ο ρόλος τους είναι να ενεργοποιούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε περιπτώσεις που αυτός είναι απαραίτητος, όπως π.χ. κατά την επούλωση τραυμάτων.

Τα πρωτο-ογκογονίδια εάν υποστούν μετάλλαξη (συνήθως γονιδιακή ή χρωμοσωμική, π.χ. μετατόπιση) μετατρέπονται σε ογκογονίδια, τα οποία υπερλειτουργούν και οδηγούν το κύτταρο σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και τη δημιουργία καρκίνου.

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι γονίδια που ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, καταστέλλοντάς τον, όταν αυτό είναι απαραίτητο. Ενδεχόμενη μετάλλαξη (κυρίως έλλειψη γονιδίου) στα γονίδια αυτά προκαλεί αναστολή στη δράση τους, αφαιρώντας έτσι τη δυνατότητα ελέγχου του πολλαπλασιασμού και οδηγώντας σε καρκινογένεση. Οι βασικές διαφορές ογκογονιδίων – ογκοκατασταλτικών γονιδίων είναι:

Ουκογονίδια

Ουκοκατασταλτικά γονίδια

Προέρχονται από μετάλλαξη των πρωτο-ουκογονιδίων τα οποία υπάρχουν φυσιολογικά στο γονιδίωμα

Υπάρχουν φυσιολογικά στο γονιδίωμα

Τα πρωτο-ουκογονίδια, από τα οποία προέρχονται, ενεργοποιούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, όπου είναι απαραίτητο.

Ελέγχουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό καταστέλλοντάς τον, όπου αυτό είναι απαραίτητο

Προκαλούν καρκίνο όταν τα πρωτο-ουκογονίδια υποστούν μετάλλαξη, συνήθως γονιδιακή ή χρωμοσωμική (π.χ μετατόπιση)

Προκαλούν καρκίνο όταν υποστούν μετάλλαξη, κυρίως έλλειψη γονιδίου

Γιατί ο καρκίνος είναι πολύπλοκη ασθένεια;



Όπως έγινε φανερό, ο καρκίνος σχετίζεται με αλλαγές στο γενετικό υλικό. Εντούτοις δεν κληρονομείται ως απλός Μενδελικός χαρακτήρας, αλλά είναι αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Η πολυπλοκότητα της ασθένειας αυτής σχετίζεται με τα παρακάτω αίτια:

- Ο καρκίνος, σε αντίθεση με τις κληρονομικές ασθένειες, όπως η δρεπανοκυτταρική αναιμία, δεν προκαλείται από μία μετάλλαξη αλλά από τη «συσσώρευση» αρκετών γενετικών αλλαγών στα κύτταρα. Οι μεταλλάξεις αυτές είναι αποτέλεσμα διαφορετικών περιβαλλοντικών μεταλλαξογόνων παραγόντων όπως η ακτινοβολία ή χημικές ουσίες.
- Στη δημιουργία κάθε είδους καρκίνου συμμετέχουν συνήθως τόσο τα ογκογονίδια όσο και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια. Για παράδειγμα, στο καρκίνο του παχέος εντέρου βρέθηκε ότι συμμετέχουν αρκετά γονίδια και των δύο τύπων, τα οποία έχουν υποστεί μεταλλάξεις.



ΛΥΣΕΙΣ ΣΧΟΛΙΚΟΥ ΒΙΒΛΙΟΥ



1. Ένας γενετιστής βρήκε ότι μια μετάλλαξη σε ένα γονίδιο δεν είχε επίδραση στην πολυπεπτιδική αλυσίδα που κωδικοποιείται από αυτό. Σε τι μπορεί να οφείλεται η συγκεκριμένη μετάλλαξη;

α. Σε έλλειψη μιας βάσης

β. Σε αλλαγή στο κωδικόνιο έναρξης

γ. Σε προσθήκη μιας βάσης

δ. Σε έλλειψη ολόκληρου του γονιδίου

ε. Σε αντικατάσταση μιας βάσης.

Σωστή απάντηση είναι η ε. (με την αντικατάσταση προκύπτει ένα συνώνυμο κωδικόνιο)



2. Η αλληλουχία των αμινοξέων: Glu -Cys -Met -Phe -Trp -Asp αποτελεί τμήμα μίας φυσιολογικής πρωτεΐνης. Προσδιορίστε τον τύπο μετάλλαξης, ο οποίος έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της αλληλουχίας ή και του αριθμού των αμινοξέων σε καθεμία από τις παρακάτω μεταλλαγμένες πρωτεΐνες: (συμβουλευτείτε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα)

Φυσιολογική πρωτεΐνη -Asp	Glu -Cys -Met -Phe -Trp
Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη Α	Glu -Cys -Ile -Phe -Trp -Asp
Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη Β	Glu -Val -Cys -Ser -Gly -Thr
Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη Γ	Glu -Cys -Met -Phe
Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη Δ	Glu -Met -Tyr -Val -Leu -Gly

Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη Α: Οφείλεται σε γονιδιακή σημειακή μετάλλαξη στην τριπλέτα που κωδικοποιεί το τρίτο αμινοξύ. Στο μόριο του DNA αλλάζει μια βάση και το φυσιολογικό κωδικόνιο ATG που κωδικοποιεί τη μεθειονίνη αντικαθίσταται από το AΤΤ (ή το ATC ή το ATA), που κωδικοποιεί την ισολευκίνη.

Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη Β: Οφείλεται σε γονιδιακή μετάλλαξη, συγκεκριμένα σε έλλειψη, του τέταρτου νουκλεοτιδίου στην φυσιολογική αλληλουχία του DNA. Από την τριπλέτα TGT, που κωδικοποιεί το αμινοξύ κυστεΐνη, λείπει το πρώτο νουκλεοτίδιο με συνέπεια να αλλάζει το πλαίσιο ανάγνωσης στην αλληλουχία του DNA.

Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη Γ: Οφείλεται σε γονιδιακή σημειακή μετάλλαξη στην τρι-πλέτα που στη φυσιολογική πρωτεΐνη κωδικοποιεί το πέμπτο αμινοξύ (τρυπτοφάνη). Στο μόριο του DNA αλλάζει μια βάση και το φυσιολογικό κωδικόνιο TGG, που κωδικοποιεί τη τρυπτοφάνη, αντικαθίσταται από TGA ή TAG, που κωδικοποιεί λήξη.

Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη Δ: Οφείλεται σε γονιδιακή μετάλλαξη, συγκεκριμένα σε προσθήκη νουκλεοτιδίου με αζωτούχο βάση αδενίνη, ανάμεσα στο τρίτο και το τέταρτο νουκλεοτίδιο της φυσιολογικής αλληλουχίας του DNA με συνέπεια να αλλάζει το πλαίσιο ανάγνωσης στην αλληλουχία του DNA

3. Οι παρακάτω μεταλλαγμένες αιμοσφαιρίνες χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένη αντικατάσταση αμινοξέων στην πολυπεπτιδική αλυσίδα. Πως πραγματοποιήθηκαν οι αλλαγές αυτές; Συμβουλευτείτε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα).

Μεταλλαγμένη αιμοσφαιρίνη	Αλυσίδα αιμοσφαιρίνης	Θέση	Αντικατάσταση αμινοξέος
<u>Hb Hikari</u>	β	61	Λυσίνη => Ασπαριγίνη
Hb I	α	16	Λυσίνη => Γλουταμίνη
Hb D Idaban	β	87	Θρεονίνη => Λυσίνη
Hb G Philadelphia	α	68	Ασπαριγίνη => Λυσίνη

Μεταλλαγμένη αιμοσφαιρίνη Hb Hikari: Στο μόριο του DNA για τη β αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης αλλάζει μια βάση στη θέση 61 και το φυσιολογικό κωδικόνιο AAG (ή το AAA), που κωδικοποιεί το αμινοξύ λυσίνη, αντικαθίσταται από το AAT (ή το AAC), που κωδικοποιεί το αμινοξύ ασπαργίνη.

Μεταλλαγμένη αιμοσφαιρίνη Hb 1: Στο μόριο του DNA για την α αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης αλλάζει μια βάση στη θέση 16 και το φυσιολογικό κωδικόνιο AAG (ή το AAA), που κωδικοποιεί το αμινοξύ λυσίνη, αντικαθίσταται από το CAG (ή το CAA), που κωδικοποιεί το αμινοξύ γλουταμίνη.

Μεταλλαγμένη αιμοσφαιρίνη Hb D Idaban: Στο μόριο του DNA για τη β αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης αλλάζει μια βάση στη θέση 87 και το φυσιολογικό κωδικόνιο ACG (ή το ACA), που κωδικοποιεί το αμινοξύ θρεονίνη, αντικαθίσταται από το AAG (ή το AAA), που κωδικοποιεί το αμινοξύ λυσίνη.

Μεταλλαγμένη αιμοσφαιρίνη Hb G Philadelphia: Στο μόριο του DNA για την α αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης αλλάζει μια βάση στη θέση 68 και το φυσιολογικό κωδικόνιο AAT (ή το AAC), που κωδικοποιεί το αμινοξύ ασπαργίνη, αντικαθίσταται από το AAG (ή το AAA), που κωδικοποιεί το αμινοξύ λυσίνη.

4. Η αιμοσφαιρίνη C (HbC) δημιουργείται από μια μετάλλαξη στη φυσιολογική αιμοσφαιρίνη A (HbA). Στην 6η θέση της β-αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης C υπάρχει το αμινοξύ λυσίνη αντί του γλουταμινικού οξέος (HbA). Με ποιο γενετικό μηχανισμό μπορεί να ερμηνευτεί η αντικατάσταση του αμινοξέος; (συμβουλευτείτε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα).

Η αντικατάσταση του αμινοξέος μπορεί να ερμηνευτεί ως γονιδιακή σημειακή μετάλλαξη στην τριπλέτα που κωδικοποιεί το έκτο αμινοξύ. Στο μόριο του DNA αλ-λάζει μια βάση και το φυσιολογικό κωδικόνιο GAA (ή το GAG), που κωδικοποιεί το γλουταμινικό, αντικαθίσταται από το AAA (ή το AAG), που κωδικοποιεί τη λυσίνη.

5. Μια παθολογική αιμοσφαιρίνη που υπάρχει στον άνθρωπο είναι η Constant Spring. Η αλυσίδα α της αιμοσφαιρίνης αυτής αποτελείται από 172 αμινοξέα (η αλυσίδα α της φυσιολογικής αιμοσφαιρίνης έχει 141 αμινοξέα).

α. περιγράψτε τον τύπο της αλλαγής η οποία μπορεί να δώσει αυτόν το φαινότυπο.

β. στην αιμοσφαιρίνη Constant Spring το 142ο αμινοξύ είναι η γλουταμίνη. Άλλες παραλλαγές της παθολογικής αυτής αιμοσφαιρίνης, (αλυσίδα α από 172 αμινοξέα) έχουν στη θέση 142 σερίνη ή λυσίνη. Με ποιο τρόπο δημιουργήθηκαν αυτά τα αμινοξέα και τι σχέση μπορούν να έχουν με την ύπαρξη πε-ρισσότερων αμινοξέων στην αλυσίδα α;

γ. η ακολουθία αμινοξέων από την θέση 143 έως την 172 για όλες αυτές τις παραλλαγές της αιμοσφαιρίνης Constant Spring είναι η ίδια. Τι συμπεράσματα βγαίνουν; (συμβουλευτείτε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα).

- α. Η αλλαγή η οποία μπορεί να δώσει αυτόν το φαινότυπο είναι μία γονιδιακή σημειακή μετάλλαξη στην τριπλέτα που κωδικοποιεί λήξη, με συνέπεια να κωδικοποιείται αμινοξύ και να συνεχίζεται η μεταγραφή στο μόριο του DNA, μέ-χρις ότου βρεθεί το επόμενο κωδικόνιο λήξης.
- β. Αυτά τα αμινοξέα δημιουργήθηκαν από γονιδιακή σημειακή μετάλλαξη. Στο μόριο του DNA αλλάζει μια βάση και το φυσιολογικό κωδικόνιο (TAA ή TAG ή TGA), που κωδικοποιεί τη λήξη, αντικαθίσταται από το CAA (ή το CAG), που κωδικοποιεί τη γλουταμίνη, ή από το TCA (ή το TCG) που κωδικοποιεί τη σερί-νη, ή από το AAA (ή το AAG, που κωδικοποιεί τη λυσίνη. Αυτό έχει ως συνέπεια να κωδικοποιείται αμινοξύ και να συνεχίζεται η μεταγραφή στο μόριο του DNA.
- γ. Τα συμπεράσματα που βγαίνουν είναι ότι έγινε γονιδιακή σημειακή μετάλλαξη (αντικατάσταση βάσης) στο μόριο του DNA μόνο στην τριπλέτα που κωδικοποιεί λήξη στη φυσιολογική αιμοσφαιρίνη ή το 142ο αμινοξύ στην αιμοσφαιρίνη Constant Spring.

6. Ποια από τις παρακάτω προτάσεις που αφορούν το φαινόμενο της ανευπλοειδίας είναι λανθασμένη και γιατί :

- α. Οφείλεται συνήθως στο μη διαχωρισμό ενός ζεύγους ομολόγων χρωμοσωμάτων κατά τη μείωση
- β. Στα κύτταρα υπάρχει ένα επιπλέον χρωμόσωμα
- γ. Στα κύτταρα υπάρχει ένα λιγότερο χρωμόσωμα
- δ. Στα κύτταρα λείπει τμήμα ενός χρωμοσώματος

Η λανθασμένη είναι η δ. επειδή η απουσία τμήματος χρωμοσώματος είναι δομική χρωμοσωμική ανωμαλία, (έλλειψη) και όχι αριθμητική όπως η ανευπλοειδία.



7. Τα χρωμοσώματα στα σωματικά κύτταρα του ανθρώπου είναι 46. Πόσα χρωμοσώματα υπάρχουν αντίστοιχα στα πιο κάτω κύτταρα; Επιλέξτε τη σωστή στήλη

	A	B	Γ	Δ	E
Ζυγωτό	46	23	46	46	46
Κύτταρο γαμέτης	23	23	46	23	23
Σωματικό κύτταρο ατόμου μονοσωμικού	46	45	45	45	45
Σωματικό κύτταρο ατόμου τρισωμικού	47	47	47	47	24

Σωστή είναι η στήλη Δ



8. Ποιο θα είναι το αποτέλεσμα στην πρωτεΐνη που παράγεται σε προκαρυωτικό κύτταρο αν στο γονίδιο που τη κωδικοποιεί γίνει αντικατάσταση μίας βάσης;

- α. Στην περίπτωση που η αντικατάσταση έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας διαφορετικής τριπλέτας, η οποία όμως κωδικοποιεί το ίδιο αμινοξύ (συνώνυμο κωδικόνιο), δεν αλλάζει η ακολουθία αμινοξέων στην παραγόμενη πρωτεΐνη.
- β. Στις περισσότερες όμως περιπτώσεις η αντικατάσταση έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας διαφορετικής τριπλέτας, η οποία κωδικοποιεί άλλο αμινοξύ με συνέπεια τη σύνθεση μιας αλλαγμένης πρωτεΐνης. Εάν η μετάλλαξη επηρεάζει α-αμινοξέα σημαντικά για τη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης, τότε δημιουργείται σοβαρό πρόβλημα για τον οργανισμό. Αν η μετάλλαξη επηρεάζει αμινοξέα που αφορούν περιοχή της πρωτεΐνης που δεν είναι σημαντική για τη λειτουργία του μορίου, τότε περνά σχεδόν απαρατήρητη ή δημιουργεί μόνον ήπια προβλήματα.
- γ. Σε ελάχιστες περιπτώσεις η αντικατάσταση αυτή μπορεί να μετατρέψει μία τριπλέτα DNA η οποία αντιστοιχεί σε κωδικόνιο που κωδικοποιεί κάποιο αμινοξύ σε τριπλέτα που αντιστοιχεί σε κωδικόνιο λήξης, με συνέπεια το σχηματισμό μικρό-τερης και μη λειτουργικής πρωτεΐνης.
- δ. Η αντικατάσταση μπορεί να μετατρέψει την τριπλέτα που αντιστοιχεί στο κωδικόνιο λήξης σε κωδικόνιο που κωδικοποιεί κάποιο αμινοξύ, με συνέπεια το σχηματισμό μεγαλύτερης και συνήθως μη λειτουργικής πρωτεΐνης.

9. Να σχηματίσετε τα σωστά ζευγάρια:

- α. Σύνδρομο cri du chat
- β. Σύνδρομο Klinefelter
- γ. Σύνδρομο Down
- δ. Σύνδρομο Turner

- 1. τρισωμία φυλετικών χρωμοσωμάτων
- 2. τρισωμία αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων
- 3. μονοσωμία φυλετικών χρωμοσωμάτων
- 4. έλλειψη

$\alpha \Rightarrow 4, \beta \Rightarrow 1, \gamma \Rightarrow 2, \delta \Rightarrow 3.$

10. Για ποιο λόγο νομίζετε ότι οι τρισωμίες που παρατηρούνται με σχετικά μεγάλη συχνότητα αφορούν τα χρωμοσώματα 13, 18 και 21 ;

Τα χρωμοσώματα 13, 18 και 21 είναι σχετικά μικρά σε μέγεθος και επομένως έχουν μικρότερο αριθμό γονιδίων από άλλα μεγαλύτερα



11. Ποιες από τις παρακάτω γενετικές ανωμαλίες μπορούν να ανιχνευθούν με τη βοήθεια του καρυοτύπου; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας

α. Δρεπανοκυτταρική αναιμία

β. Σύνδρομο Klinefelter

γ. Σύνδρομο Down

δ. Φαιτυλκετονουρία

ε. β-Θαλασσαιμία

στ. Σύνδρομο Turner .

Με τη βοήθεια του καρυοτύπου μπορούν να ανιχνευθούν τα Σύνδρομα Klinefelter, Down και Turner, που οφείλονται σε αριθμητικές ανωμαλίες. Στον καρυότυπο των ατόμων που πάσχουν από σύνδρομο Klinefelter εμφανίζεται ένα επι-πλέον φυλετικό X χρωμόσωμα στα XY άτομα. Τα άτομα με σύνδρομο Klinefelter έχουν φυσιολογικό αριθμό αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων (44) και τρία φυλετικά χρωμοσώματα (XXY) αντί του φυσιολογικού ζεύγους XY. Στον καρυότυπο των ατόμων που πάσχουν από σύνδρομο Down, σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις, εμφανίζεται ένα επιπλέον χρωμόσωμα στο 21 ο ζεύγος των αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων .Στον καρυότυπο των ατόμων που πάσχουν από σύνδρομο Turner εμφανίζεται έλλειψη ενός φυλετικού χρωμοσώματος. Τα άτομα με σύνδρομο Turner έχουν φυσιολογικό αριθμό αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων (44) αλλά μόνο ένα χρωμόσωμα X από το ζεύγος των φυλετικών χρωμοσωμάτων (XO).

12. Ποιες από τις παρακάτω δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες έχουν ως αποτέλεσμα την αλλαγή του ποσού της γενετικής πληροφορίας; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας

α. έλλειψη

β. αναστροφή

γ. διπλασιασμός

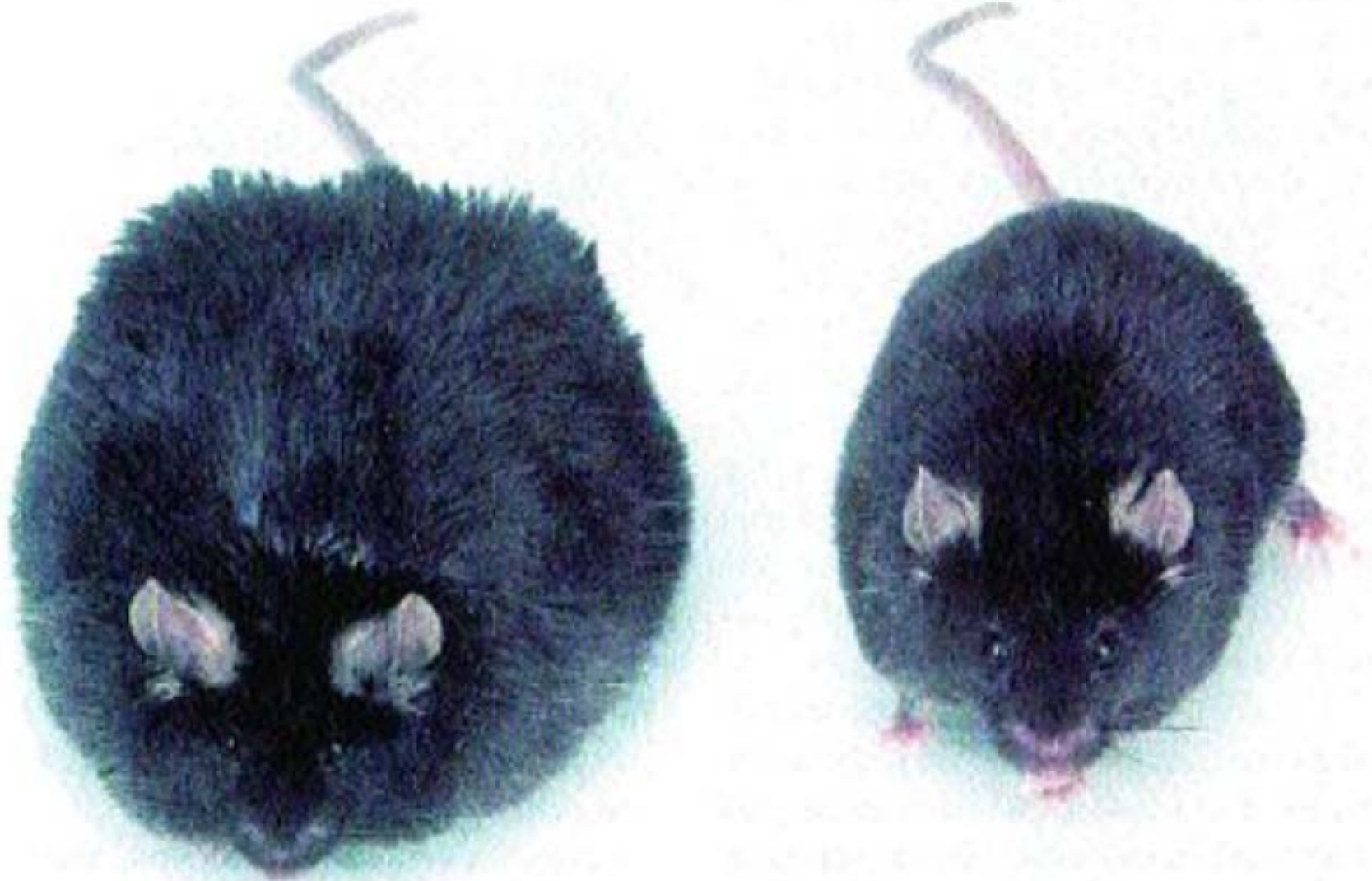
δ. αμοιβαία μετατόπιση

Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες που έχουν ως αποτέλεσμα την αλλαγή του ποσού της γενετικής πληροφορίας είναι η έλλειψη, στην οποία έχουμε απώλεια γενετικού υλικού, και ο διπλασιασμός στον οποίο έχουμε επανάληψη ενός τμήματος στο χρωμόσωμα.

Οι άλλες δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες έχουν ως αποτέλεσμα την αλλαγή στη διάταξη της πληροφορίας στα χρωμοσώματα. Η αναστροφή δημιουργείται από θραύσεις σε δύο διαφορετικά σημεία ενός χρωμοσώματος και σε συνέχεια από ε-πανένωση του τμήματος ύστερα από αναστροφή. Στην αμοιβαία μετατόπιση έχουμε «ανταλλαγή» χρωμοσωμικών τμημάτων ανάμεσα σε μη ομόλογα χρωμοσώματα.

ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΕΝΝΟΙΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ Γ ΛΥΚΕΙΟΥ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ

Κεφάλαιο Έβδομο
Ενότητα: Αρχές
Βιοτεχνολογίας



Τα γενετικά τροποποιημένα ποντίκια της φωτογραφίας, στα οποία “απουσιάζει” το γονίδιο της λεπτίνης, χρησιμοποιούνται σε πειράματα μελέτης απώλειας βάρους.

Τι εννοούμε με τον όρο «Βιοτεχνολογία»;



<http://www.bio.uth.gr>

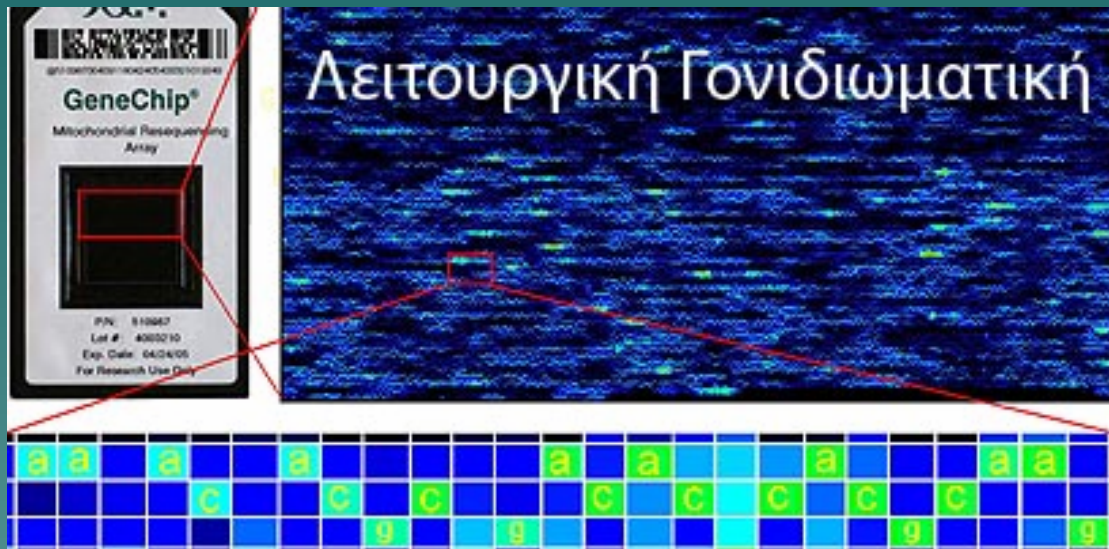
Οι ζωντανοί οργανισμοί χρησιμοποιούνται εδώ και χιλιάδες χρόνια για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων. Παλαιότερα χρησιμοποιούντο κυρίως για την παραγωγή ψωμιού, μπίρας και κρασιού. Σήμερα οι εξελίξεις στην Επιστήμη και στην Τεχνολογία δίνουν τη δυνατότητα χρησιμοποίησης των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή ευρείας κλίμακας προϊόντων όπως τροφίμων, αντιβιοτικών και εμβολίων. Ο όρος Βιοτεχνολογία χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Ούγγρο Kark Ereky το 1919, για να περιγράψει τη «διαδικασία παραγωγής προϊόντων από ακατέργαστα υλικά με τη βοήθεια ζωντανών οργανισμών».

Σήμερα η Βιοτεχνολογία αποτελεί συνδυασμό Επιστήμης και Τεχνολογίας με στόχο την εφαρμογή των γνώσεων που έχουν αποκτηθεί από τη μελέτη των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή σε ευρεία κλίμακα χρήσιμων προϊόντων. Τέτοια προϊόντα είναι, για παράδειγμα, η αλκοόλη, που παράγεται με ζύμωση, και η ανθρώπινη ινσουλίνη, που παράγεται από γενετικά τροποποιημένα βακτήρια. Η Βιοτεχνολογία συνεισφέρει σε διάφορους τομείς όπως είναι η Ιατρική, η γεωργία, η κτηνοτροφία, η βιομηχανία και η προστασία του περιβάλλοντος.

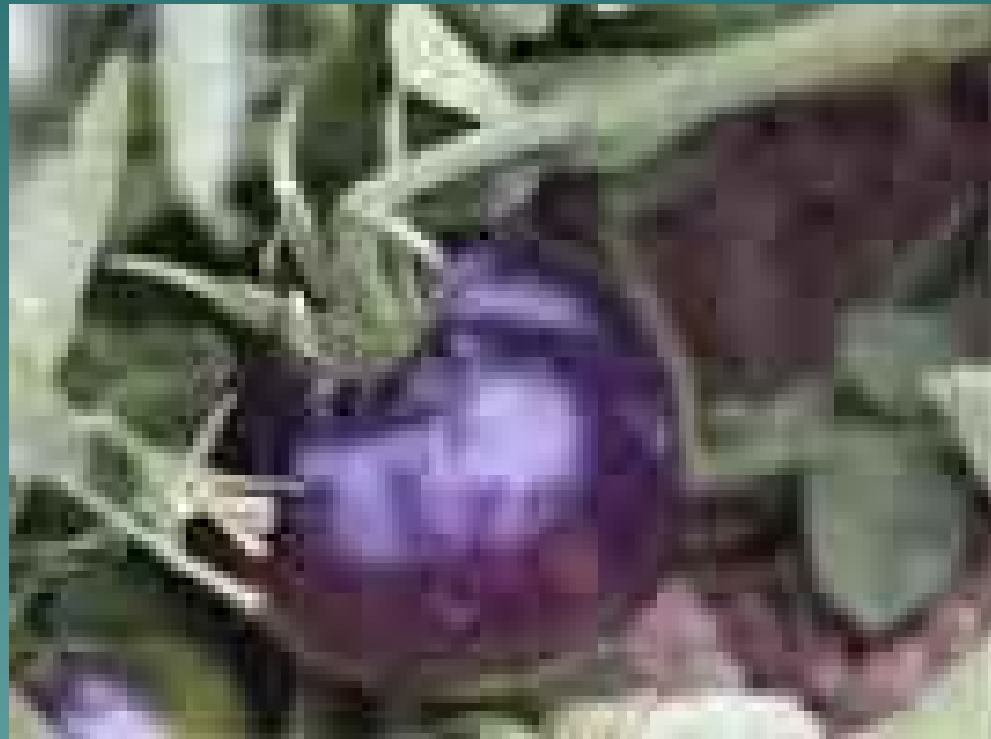
Βιοτεχνολογία με την ευρεία έννοια είναι η χρήση ζωντανών οργανισμών προς όφελος του ανθρώπου.



Σε ποιες τεχνικές στηρίζεται η Βιοτεχνολογία;



Η Βιοτεχνολογία στηρίζεται κυρίως σε τεχνικές καλλιέργειας και ανάπτυξης των μικροοργανισμών και σε τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA.



Μωβ ντομάτες με αντικαρκινικές ιδιότητες, δημιούργησαν Βρετανοί επιστήμονες

Για ποιον, κυρίως, λόγο χρησιμοποιούνται
οι τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA στη
Βιοτεχνολογία;



Η Βιοτεχνολογία στηρίζεται κυρίως σε τεχνικές καλλιέργειας και ανάπτυξης των μικροοργανισμών και σε τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA. Οι τελευταίες βρίσκουν άμεση εφαρμογή στη Βιοτεχνολογία, επειδή παρέχουν τη δυνατότητα εισαγωγής νέων επιθυμητών ιδιοτήτων στους ζωντανούς οργανισμούς σε μικρότερο χρόνο και με μεγαλύτερη ακρίβεια από ότι στο παρελθόν. Το νέο στη Βιοτεχνολογία είναι όχι οι ιδέες εφόσον και στο παρελθόν είχαν γίνει προσπάθειες τροποποίησης των ιδιοτήτων των οργανισμών, αλλά οι τεχνικές για την υλοποίησή τους.

Για ποιο λόγο χρησιμοποιούνται τεχνικές καλλιέργειας και ανάπτυξης μικροοργανισμών στη Βιοτεχνολογία;



Οι επιστήμονες είχαν ήδη αρχίσει από τα μέσα του δέκατου ένατου αιώνα τις προσπάθειες για την καλλιέργεια βακτηρίων και μυκήτων. Ο Louis Pasteur στο Παρίσι υπήρξε από του πρωτοπόρους αυτής της προσπάθειας. Για το σκοπό αυτό ήταν απαραίτητη η απομόνωση αρχικά των διαφόρων ειδών βακτηρίων ή μυκήτων, η παρασκευή κατάλληλων θρεπτικών υλικών και η διαμόρφωση κατάλληλων συνθηκών ανάπτυξης. Σήμερα οι μικροοργανισμοί οι οποίοι χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων όπως αντιβιοτικά ή ένζυμα μπορούν να αναπτυχθούν στο εργαστήριο και σε μεγάλη κλίμακα στις βιομηχανικές μονάδες κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες καλλιέργειας.



Τι είναι και τι καθορίζει ο χρόνος διπλασιασμού των μικροοργανισμών;



Οι μικροοργανισμοί όταν βρεθούν σε κατάλληλες συνθήκες, αυξάνονται σε μέγεθος και διαιρούνται με αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού τους. Τα κύτταρα που προκύπτουν μετά από κάθε διαίρεση έχουν πρακτικά το ίδιο μέγεθος με το αρχικό κύτταρο. Ο ρυθμός ανάπτυξης ενός πληθυσμού μικροοργανισμών, δηλαδή ο ρυθμός με τον οποίο διαιρούνται τα κύτταρά του, καθορίζεται από το **χρόνο διπλασιασμού**. Κάθε είδος μικροοργανισμού έχει χαρακτηριστικό χρόνο διπλασιασμού.



Ποιοι παράγοντες επηρεάζουν και πως το χρόνο διπλασιασμού των μικροοργανισμών;



Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού και κατά συνέπεια το ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, το pH, το O₂ και η θερμοκρασία.

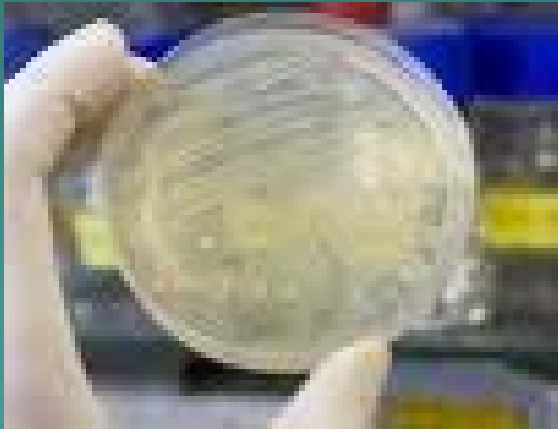
Όπως και όλοι οι υπόλοιποι οργανισμοί, για να αναπτυχθεί ένας μικροοργανισμός είναι απαραίτητο να μπορεί να προμηθεύεται από το περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσεται μια σειρά **θρεπτικών συστατικών**. Σ' αυτά περιλαμβάνονται ο άνθρακας, το άζωτο, διάφορα μεταλλικά ιόντα και το νερό. Η πηγή C για τους αυτότροφους μικροοργανισμούς είναι το CO₂ της ατμόσφαιρας, ενώ για τους ετερότροφους διάφορες οργανικές ενώσεις όπως οι υδατάνθρακες. Η πηγή N για τους περισσότερους μικροοργανισμούς είναι τα αμμωνιακά ή τα νιτρικά ιόντα (NO₃⁻). Τέλος, τα μεταλλικά ιόντα είναι απαραίτητα για την πραγματοποίηση των χημικών αντιδράσεων στο κύτταρο και ως συστατικά διαφόρων μορίων.

Το **pH** επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Οι περισσότεροι αναπτύσσονται σε pH 6-9. Υπάρχουν όμως μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε διαφορετικό pH, όπως είναι τα βακτήρια του γένους *Lactobacillus*, που αναπτύσσονται σε pH 4-5.

Η **παρουσία ή απουσία O₂** μπορεί να βοηθήσει ή να αναστείλει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Υπάρχουν μικροοργανισμοί που για την ανάπτυξη τους απαιτούν υψηλή συγκέντρωση O₂ (**υποχρεωτικά αερόβιοι**) όπως τα βακτήρια του γένους *Mycobacterium*. Άλλοι μικροοργανισμοί, όπως οι μύκητες που χρησιμοποιούνται στην αρτοβιομηχανία, ανήκουν στην κατηγορία των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται παρουσία O₂ με ταχύτερο ρυθμό απ' ό τι απουσία O₂ (**προαιρετικά αερόβιοι**). Τέλος, υπάρχουν μικροοργανισμοί όπως βακτήρια του γένους *Clostridium* για τους οποίους το O₂ είναι τοξικό (**υποχρεωτικά αναερόβιοι**).

Η **θερμοκρασία** είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που καθορίζουν το ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται άριστα σε θερμοκρασία 20-45° C. Για παράδειγμα, η *Escherichia coli*, που χρησιμοποιείται σε πειράματα Μοριακής Βιολογίας, αναπτύσσεται άριστα σε θερμοκρασία 37° C. Υπάρχουν όμως ορισμένοι που για την ανάπτυξη τους απαιτούν θερμοκρασία μεγαλύτερη από 45° C, όπως αυτοί που αναπτύσσονται κοντά σε θερμοπηγές, και άλλοι που αναπτύσσονται σε θερμοκρασία μικρότερη των 20° C .

Ποια βήματα ακολουθούνται για την καλλιέργεια μικροοργανισμών στο εργαστήριο;



Οι επιστήμονες είχαν ήδη αρχίσει από τα μέσα του δέκατου ένατου αιώνα τις προσπάθειες για την καλλιέργεια βακτηρίων και μυκήτων. Ο Louis Pasteur στο Παρίσι υπήρξε από του πρωτοπόρους αυτής της προσπάθειας. Για το σκοπό αυτό ήταν απαραίτητη η απομόνωση αρχικά των διαφόρων ειδών βακτηρίων ή μυκήτων, η παρασκευή κατάλληλων θρεπτικών υλικών και η διαμόρφωση κατάλληλων συνθηκών ανάπτυξης. Σήμερα οι μικροοργανισμοί οι οποίοι χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων όπως αντιβιοτικά ή ένζυμα μπορούν να αναπτυχθούν στο εργαστήριο και σε μεγάλη κλίμακα στις βιομηχανικές μονάδες κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες καλλιέργειας. Για την ανάπτυξη τους χρησιμοποιούνται τεχνητά θρεπτικά υλικά. Αυτά πρέπει να περιέχουν πηγή άνθρακα, πηγή αζώτου και ιόντα. Στην περίπτωση αερόβιων μικροοργανισμών, είναι απαραίτητη η παρουσία οξυγόνου. Τα **θρεπτικά υλικά** που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών στο εργαστήριο μπορεί να είναι υγρά ή στερεά. Τα υγρά θρεπτικά υλικά περιέχουν όλα τα θρεπτικά συστατικά που αναφέρθηκαν προηγουμένως διαλυμένα σε νερό. Τα στερεά θρεπτικά υλικά παρασκευάζονται με ανάμιξη των υγρών θρεπτικών υλικών με ένα πολυσακχαρίτη που προέρχεται από φύκη το **άγαρ**. Το άγαρ είναι ρευστό σε θερμοκρασίες πάνω από 45°C αλλά στερεοποιείται σε μικρότερες θερμοκρασίες. Μία καλλιέργεια ξεκινάει με την προσθήκη μικρής ποσότητας κυττάρων στο θρεπτικό υλικό, μια διαδικασία που ονομάζεται **εμβολιασμός**. Μετά τον εμβολιασμό οι μικροοργανισμοί παραμένουν σε ένα κλίβανο που εξασφαλίζει σταθερή θερμοκρασία κατάλληλη για την ανάπτυξη τους. Με αυτό τον τρόπο σε μικρό χρονικό διάστημα, 12-76 ωρών, παράγεται μεγάλος αριθμός βακτηρίων. Οι καλλιέργειες αυτές μπορούν να διατηρηθούν σε αδρανή μορφή στην κατάψυξη (-80°C) για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα. Για την αποφυγή ανάπτυξης άλλων μικροοργανισμών, εκτός εκείνων που πρόκειται να καλλιεργηθούν, τα θρεπτικά υλικά και οι συσκευές αποστειρώνονται πριν από την έναρξη της καλλιέργειας.

Τι είδους θρεπτικά υλικά
χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη
μικροοργανισμών στο εργαστήριο;



Τα **θρεπτικά υλικά** που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών στο εργαστήριο μπορεί να είναι υγρά ή στερεά. Τα υγρά θρεπτικά υλικά περιέχουν όλα τα θρεπτικά συστατικά που αναφέρθηκαν προηγουμένως διαλυμένα σε νερό. Τα στερεά θρεπτικά υλικά παρασκευάζονται με ανάμιξη των υγρών θρεπτικών υλικών με ένα πολυσακχαρίτη που προέρχεται από φύκη το **άγαρ**. Το άγαρ είναι ρευστό σε θερμοκρασίες πάνω από 45°C αλλά στερεοποιείται σε μικρότερες θερμοκρασίες.

Τι είναι το άγαρ και ποια η
χρησιμότητά του;



Τα στερεά θρεπτικά υλικά

παρασκευάζονται με ανάμιξη των υγρών θρεπτικών υλικών με ένα πολυσακχαρίτη που προέρχεται από φύκη το **άγαρ**. Το άγαρ είναι ρευστό σε θερμοκρασίες πάνω από 45°C αλλά στερεοποιείται σε μικρότερες θερμοκρασίες.]

Πως επιτυγχάνεται η βιομηχανική καλλιέργεια μικροοργανισμών; Τι είναι οι βιοαντιδραστήρες;



Όταν γίνεται καλλιέργεια μικροοργανισμών σε μεγάλη κλίμακα (βιομηχανική καλλιέργεια) χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές που ονομάζονται **ζυμωτήρες ή βιοαντιδραστήρες**. Οι βιοαντιδραστήρες επιτρέπουν τον έλεγχο και τη ρύθμιση των συνθηκών (θερμοκρασία, pH, συγκέντρωση O_2) που αφορούν την καλλιέργεια. Στο θρεπτικό υλικό, που προστίθεται στους βιοαντιδραστήρες, χρησιμοποιούνται φθηνές πηγές άνθρακα όπως η μελάσα που αποτελεί παραπροϊόν της επεξεργασίας ζαχαροκάλαμου ή σακχαρότευτλων. Η καλλιέργεια στο βιοαντιδραστήρα ξεκινάει με τον εμβολιασμό από μια αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών που έχει γίνει στο εργαστήριο. Μέσα στο βιοαντιδραστήρα οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται και πολλαπλασιάζονται χρησιμοποιώντας τα συστατικά του θρεπτικού υλικού. Όλες οι διεργασίες πρέπει να γίνονται κάτω από στείρες συνθήκες για να μην γίνει μόλυνση της καλλιέργειας. Ο ίδιος ο βιοαντιδραστήρας και το θρεπτικό υλικό αποστειρώνονται πριν από τη χρήση.



Τι εννοούμε με τον όρο ζύμωση;
Ποια μπορεί να είναι τα προϊόντα
των ζυμώσεων;



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

Ποια βήματα ακολουθούνται για την καλλιέργεια ΜΟ σε βιοαντιδραστήρα και για την παραλαβή των προϊόντων της ζύμωσης;



. Η καλλιέργεια στο βιοαντιδραστήρα ξεκινάει με τον εμβολιασμό από μια αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών που έχει γίνει στο εργαστήριο. Μέσα στο βιοαντιδραστήρα οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται και πολλαπλασιάζονται χρησιμοποιώντας τα συστατικά του θρεπτικού υλικού. Όλες οι διεργασίες πρέπει να γίνονται κάτω από στείρες συνθήκες για να μην γίνει μόλυνση της καλλιέργειας. Ο ίδιος ο βιοαντιδραστήρας και το θρεπτικό υλικό αποστειρώνονται πριν από τη χρήση.

Το προϊόντα της ζύμωσης είναι είτε τα ίδια τα κύτταρα που ονομάζονται **βιομάζα** είτε προϊόντα των κυττάρων όπως πρωτεΐνες και αντιβιοτικά.

Τελική κατεργασία είναι η διεργασία καθαρισμού του προϊόντος που παραλαμβάνεται από το βιοαντιδραστήρα. Αρχικά, γίνεται διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά, στα οποία συμπεριλαμβάνονται και τα κύτταρα. Αυτό γίνεται συνήθως με διήθηση ή με φυγοκέντρηση. Το επιθυμητό προϊόν μπορεί να περιλαμβάνεται στα στερεά ή υγρά συστατικά. Από όπου παραλαμβάνεται με τη χρήση καταλλήλων μεθόδων.

Τα προϊόντα της ζύμωσης μπορούν να αξιοποιηθούν μόνο όταν είναι απόλυτα καθαρά, δηλαδή όταν δεν έχουν προσμείξεις

Ποιους τύπους ζυμώσεων γνωρίζετε;



Υπάρχουν διάφοροι τύποι ζυμώσεων, οι οποίοι μπορούν να εφαρμοστούν ανάλογα με το επιθυμητό προϊόν. Δύο ευρέως χρησιμοποιούμενοι τύποι είναι η κλειστή και η συνεχής καλλιέργεια.

Κλειστή καλλιέργεια: Σ' αυτό τον τύπο ζύμωσης τοποθετείται στο βιοαντιδραστήρα ορισμένη ποσότητα αποστειρωμένου θρεπτικού υλικού, η οποία εμβολιάζεται με αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών. Η καλλιέργεια συνεχίζεται μέχρι την παραγωγή του επιθυμητού προϊόντος. Στην κλειστή καλλιέργεια οι φάσεις ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι η λανθάνουσα, η εκθετική, η στατική και η φάση θανάτου.

Κατά τη **λανθάνουσα φάση** ο πληθυσμός των μικροοργανισμών που προέρχεται από την αρχική καλλιέργεια παραμένει σχεδόν σταθερός. Αυτό οφείλεται στο ότι οι μικροοργανισμοί χρειάζονται κάποιο χρονικό διάστημα, για να προσαρμοστούν στις καινούριες συνθήκες και να αρχίσουν να αναπτύσσονται. Στη συνέχεια, οι μικροοργανισμοί διαιρούνται με ταχύ ρυθμό, επειδή η καλλιέργεια πραγματοποιείται κάτω από άριστες συνθήκες θερμοκρασίας, pH, συγκέντρωσης O_2 και στο υλικό καλλιέργειας υπάρχουν άφθονα θρεπτικά συστατικά. Αυτή η φάση ανάπτυξης ονομάζεται **εκθετική**, επειδή ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται εκθετικά. Ακολουθεί η **στατική φάση**, κατά την οποία ο πληθυσμός των βακτηρίων δεν αυξάνεται, λόγω εξάντλησης κάποιου θρεπτικού συστατικού ή λόγω συσσώρευσης τοξικών προϊόντων από το μεταβολισμό των μικροοργανισμών. Τέλος κατά τη **φάση θανάτου** ο αριθμός των μικροοργανισμών μειώνεται. Παρ' ότι η διαδοχή των φάσεων ανάπτυξης σε κάθε κλειστή καλλιέργεια είναι συγκεκριμένη η διάρκεια κάθε φάσης διαφέρει ανάλογα με το είδος των μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί παράγουν χρήσιμα προϊόντα συνήθως κατά τη διάρκεια της εκθετικής και της στατικής φάσης ανάπτυξης τους.

Συνεχής καλλιέργεια: Σ' αυτό τον τύπο καλλιέργειας οι μικροοργανισμοί τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά συστατικά. Ταυτόχρονα, απομακρύνονται από την καλλιέργεια κύτταρα και άχρηστα προϊόντα.

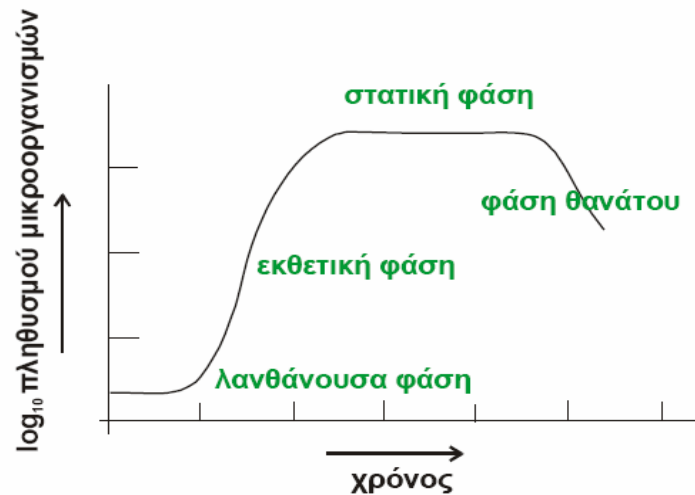


Περιγράψτε τις φάσεις ανάπτυξης των μικροοργανισμών στις κλειστές καλλιέργειες

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Κλειστή καλλιέργεια :

Τοποθετείται στο βιοαντιδραστήρα **ορισμένη** ποσότητα αποστειρωμένου θρεπτικού υλικού μέχρι να παραχθεί το επιθυμητό προϊόν. Οι φάσεις ανάπτυξης των οργανισμών είναι, η λανθάνουσα, η εκθετική, η στατική και η φάση θανάτου.



λανθάνουσα φάση: ο πληθυσμός παραμένει σχεδόν σταθερός

εκθετική φάση: ο πληθυσμός αυξάνεται εκθετικά

στατική φάση: ο πληθυσμός δεν αυξάνεται, λόγω εξάντλησης κάποιου θρεπτικού συστατικού ή λόγω συσσώρευσης τοξικών αποβλήτων από το μεταβολισμό των μικροοργανισμών.

φάση θανάτου: ο πληθυσμός μειώνεται.

Η διάρκεια κάθε φάσης διαφέρει ανάλογα με το είδος των μικροοργανισμών και τα χρήσιμα προϊόντα παράγονται συνήθως στη εκθετική ή στατική φάση της ανάπτυξής τους.

Κλειστή καλλιέργεια: Σ' αυτό τον τύπο ζύμωσης τοποθετείται στο βιοαντιδραστήρα ορισμένη ποσότητα αποστειρωμένου θρεπτικού υλικού, η οποία εμβολιάζεται με αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών. Η καλλιέργεια συνεχίζεται μέχρι την παραγωγή του επιθυμητού προϊόντος. Στην κλειστή καλλιέργεια οι φάσεις ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι η λανθάνουσα, η εκθετική, η στατική και η φάση θανάτου.

Κατά τη **λανθάνουσα φάση** ο πληθυσμός των μικροοργανισμών που προέρχεται από την αρχική καλλιέργεια παραμένει σχεδόν σταθερός. Αυτό οφείλεται στο ότι οι μικροοργανισμοί χρειάζονται κάποιο χρονικό διάστημα, για να προσαρμοστούν στις καινούριες συνθήκες και να αρχίσουν να αναπτύσσονται. Στη συνέχεια, οι μικροοργανισμοί διαιρούνται με ταχύ ρυθμό, επειδή η καλλιέργεια πραγματοποιείται κάτω από άριστες συνθήκες θερμοκρασίας, pH, συγκέντρωσης O_2 και στο υλικό καλλιέργειας υπάρχουν άφθονα θρεπτικά συστατικά. Αυτή η φάση ανάπτυξης ονομάζεται **εκθετική**, επειδή ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται εκθετικά. Ακολουθεί η **στατική φάση**, κατά την οποία ο πληθυσμός των βακτηρίων δεν αυξάνεται, λόγω εξάντλησης κάποιου θρεπτικού συστατικού ή λόγω συσσώρευσης τοξικών προϊόντων από το μεταβολισμό των μικροοργανισμών. Τέλος κατά τη **φάση θανάτου** ο αριθμός των μικροοργανισμών μειώνεται. Παρ' ότι η διαδοχή των φάσεων ανάπτυξης σε κάθε κλειστή καλλιέργεια είναι συγκεκριμένη η διάρκεια κάθε φάσης διαφέρει ανάλογα με το είδος των μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί παράγουν χρήσιμα προϊόντα συνήθως κατά τη διάρκεια της εκθετικής και της στατικής φάσης ανάπτυξης τους.

Ποιες είναι οι διαφορές μεταξύ κλειστής και συνεχούς καλλιέργειας



Κλειστή

Συνεχής

Τοποθετείται ορισμένη ποσότητα θρεπτικού υλικού

Τροφοδοτείται συνεχώς με θρεπτικό υλικό

Δεν απομακρύνονται ούτε τα νεκρά κύτταρα, ούτε τα άχρηστα (τοξικά) προϊόντα του μεταβολισμού ΜΟ (αιθανόλη, οξικό οξύ)

Απομακρύνονται τα νεκρά κύτταρα, καθώς και άχρηστα (τοξικά) προϊόντα του μεταβολισμού των ΜΟ

Παρατηρούνται 4 φάσεις ανάπτυξης, η λανθάνουσα, η εκθετική, η στατική και η φάση θανάτου

Οι ΜΟ μετά τη λανθάνουσα φάση βρίσκονται «διαρκώς σε ανάπτυξη».

Με ποιο τρόπο παραλαμβάνονται
και καθορίζονται τα προϊόντα της
ζύμωσης;



Τελική κατεργασία είναι η διεργασία καθαρισμού του προϊόντος που παραλαμβάνεται από το βιοαντιδραστήρα. Αρχικά, γίνεται διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά, στα οποία συμπεριλαμβάνονται και τα κύτταρα. Αυτό γίνεται συνήθως με διήθηση ή με φυγοκέντρωση. Το επιθυμητό προϊόν μπορεί να περιλαμβάνεται στα στερεά ή υγρά συστατικά. Από όπου παραλαμβάνεται με τη χρήση καταλλήλων μεθόδων.

Τα προϊόντα της ζύμωσης μπορούν να αξιοποιηθούν μόνο όταν είναι απόλυτα καθαρά, δηλαδή όταν δεν έχουν προσμείξεις



ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Ο ρυθμός ανάπτυξης ενός πληθυσμού μικροοργανισμών καθορίζεται από το χρόνο διπλασιασμού, δηλαδή από το ρυθμό με τον οποίο διαιρούνται τα κύτταρά του, και είναι χαρακτηριστικός για κάθε μικροοργανισμό. Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού και κατά συνέπεια τον ρυθμό ανάπτυξης είναι, η διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών, το pH, το οξυγόνο και η θερμοκρασία.

Για την επίλυση προβλημάτων πρέπει να έχουμε υπόψη μας τα παρακάτω:

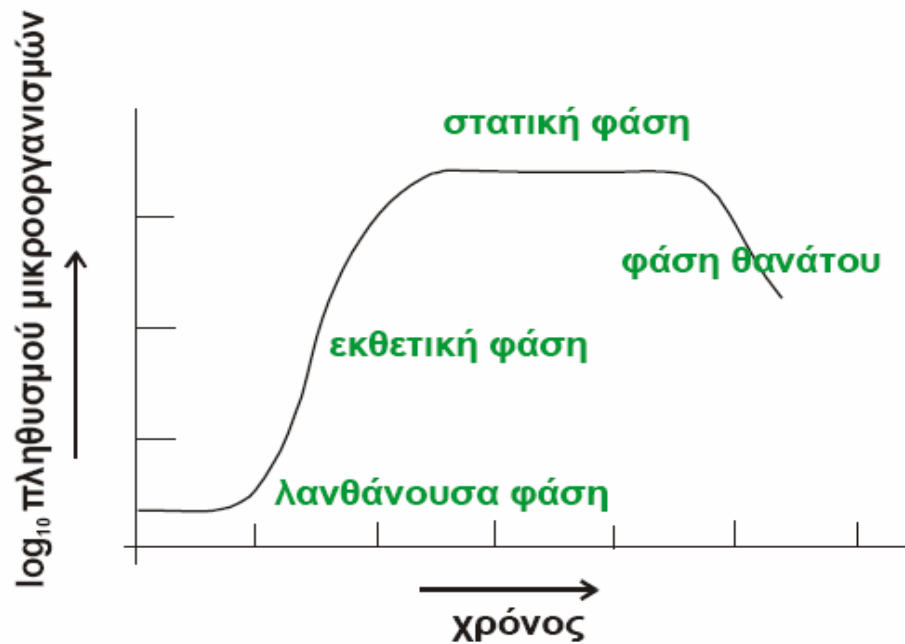
1. Ο ρυθμός ανάπτυξης ενός πληθυσμού μικροοργανισμών καθορίζεται από το χρόνο διπλασιασμού το χρόνο δηλαδή που απαιτείται ένας πληθυσμός σε δεδομένες συνθήκες να γίνει διπλάσιος.
2. Ο χρόνος διπλασιασμού κάθε μικροοργανισμού εξαρτάται εκτός από το είδος του οργανισμού και από την συνθήκες πολλαπλασιασμού. Η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, το pH, η διαθεσιμότητα οξυγόνου και η θερμοκρασία είναι βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά το χρόνο διπλασιασμού και κατά συνέπεια και το ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών

3. Με την προϋπόθεση ότι οι συνθήκες ανάπτυξης παραμένουν σταθερές και υπάρχει άφθονη παροχή τροφής οι μικροοργανισμοί πολλαπλασιάζονται εκθετικά. Ένας αρχικός πληθυσμός A_0 ενός είδους μικροοργανισμού, που έχει χρόνο διπλασιασμού T , σε χρόνο t ο πληθυσμός A θα έχει γίνει ίσος με: $A = A_0 \cdot 2^{t/T}$
4. Σε καλλιέργειες στο εργαστήριο ή στην βιομηχανία προηγείται της εκθετικής φάσης ανάπτυξης μια φάση προσαρμογής των οργανισμών που έχουν εισαχθεί με εμβολιασμό στο δοχείο της καλλιέργειας. Κατά την αρχική αυτή φάση ο πληθυσμός παραμένει σχεδόν σταθερός και προσαρμόζεται στις συνθήκες της καλλιέργειας.
5. Αν η καλλιέργεια είναι συνεχής, δηλαδή διαρκώς προστίθενται θρεπτικά συστατικά στην καλλιέργεια και ταυτόχρονα απομακρύνονται τα διάφορα απόβλητα των μικροοργανισμών της καλλιέργειας η καλλιέργεια βρίσκεται διαρκώς σε εκθετική φάση ανάπτυξης.
6. Αν η καλλιέργεια είναι κλειστή μετά την εκθετική φάση ανάπτυξης ο πληθυσμός σταθεροποιείται (στατική φάση) και μετά από κάποιο χρόνο η καλλιέργεια περνάει στη φάση θανάτου όποτε παρατηρείται σταδιακή μείωση του πληθυσμού.

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Κλειστή καλλιέργεια :

Τοποθετείται στο βιοαντιδραστήρα **ορισμένη** ποσότητα αποστειρωμένου θρεπτικού υλικού μέχρι να παραχθεί το επιθυμητό προϊόν. Οι φάσεις ανάπτυξης των οργανισμών είναι, η λανθάνουσα, η εκθετική, η στατική και η φάση θανάτου.



λανθάνουσα φάση: ο πληθυσμός παραμένει σχεδόν σταθερός

εκθετική φάση: ο πληθυσμός αυξάνεται εκθετικά

στατική φάση: ο πληθυσμός δεν αυξάνεται, λόγω εξάντλησης κάποιου θρεπτικού συστατικού ή λόγω συσσώρευσης τοξικών αποβλήτων από το μεταβολισμό των μικροοργανισμών.

φάση θανάτου: ο πληθυσμός μειώνεται.

Η διάρκεια κάθε φάσης διαφέρει ανάλογα με το είδος των μικροοργανισμών και τα χρήσιμα προϊόντα παράγονται συνήθως στη εκθετική ή στατική φάση της ανάπτυξής τους.

Συνεχής καλλιέργεια : Οι μικροοργανισμοί τροφοδοτούνται **συνεχώς** με θρεπτικά συστατικά και ταυτόχρονα απομακρύνονται από την καλλιέργεια κύτταρα και άχρηστα προϊόντα. Άρα οι μικροοργανισμοί βρίσκονται συνεχώς σε ανάπτυξη.



Ασκήσεις με λύσεις




1. Συμπληρώστε με τις κατάλληλες λέξεις τα κενά:

Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού είναι η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, το , το, και η Σε μια μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια μικροοργανισμών χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές, οι, Προϊόντα της ζύμωσης είναι η η τα Κατά τη λανθάνουσα φάση ο πληθυσμός των μικροοργανισμών παραμένει Η φάση κατά την οποία ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται με ταχύ ρυθμό ονομάζεται



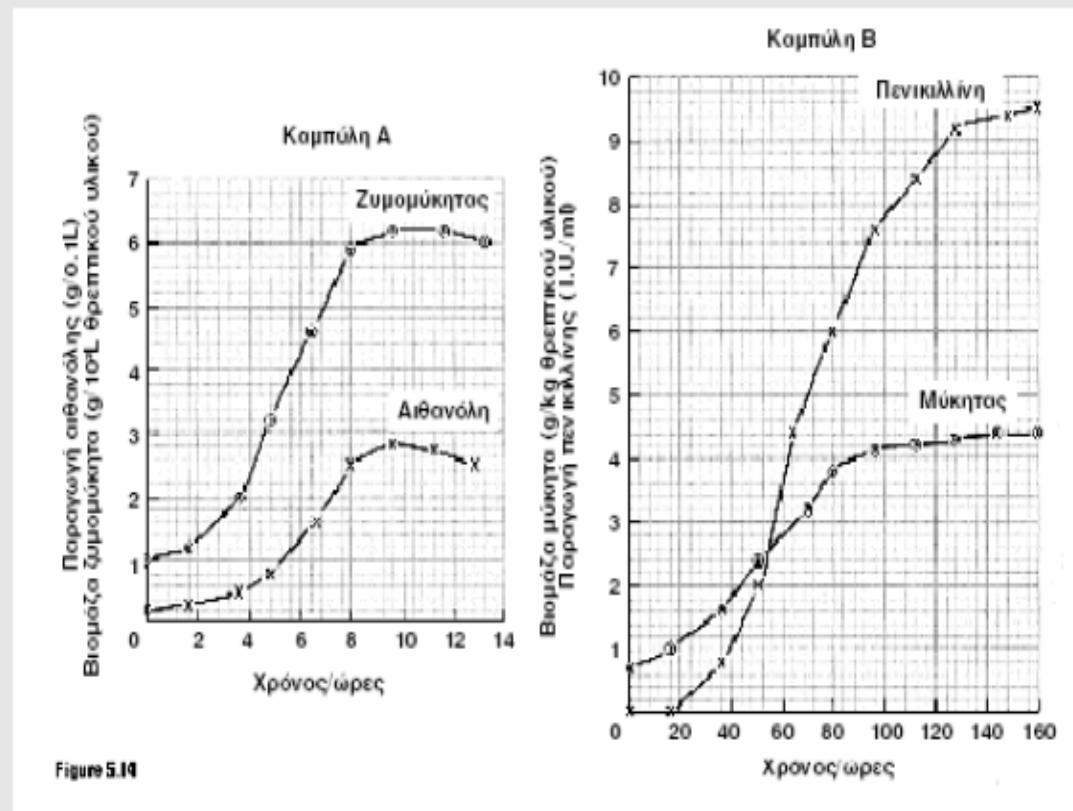
Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού είναι η διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών, το pH , το O_2 , και η θερμοκρασία. Σε μια μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια μικροοργανισμών χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές, οι βιοαντιδραστήρες (ή ζυωτήρες). Προϊόντα της ζύμωσης είναι η βιομάζα ή τα προϊόντα κυττάρων. Κατά τη λανθάνουσα φάση ο πληθυσμός των μικροοργανισμών παραμένει σταθερός. Η φάση κατά την οποία ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται με ταχύ ρυθμό ονομάζεται εκθετική.

2. Για την παραλαβή ενός προϊόντος που εκκρίνεται από κύτταρα στρεπτομύκητα ακολουθούνται τα παρακάτω στάδια. Διαγράψτε εκείνο που δεν ισχύουν:
- α. διαχωρισμός και παραλαβή των κυττάρων του μύκητα
 - β. διαχωρισμός των υγρών από το στερεά συστατικά
 - γ. παραλαβή των υγρών συστατικών
 - δ. παραλαβή των στερεών συστατικών
 - ε. καθαρισμός του επιθυμητού προϊόντος
- 

Δεν ισχύουν τα α. και δ.



3. Στις παρακάτω γραφικές παραστάσεις απεικονίζεται η ανάπτυξη δύο μικροοργανισμών του *Saccharomyces* και του *Penicillium* και η παραγωγή προϊόντων τους, όταν αυτοί καλλιεργηθούν σε βιοαντιδραστήρες. Η καμπύλη Α αφορά την ανάπτυξη του ζυμομύκητα *Saccharomyces* και την παραγωγή αιθανόλης, ενώ η καμπύλη Β την ανάπτυξη του μύκητα *Penicillium* και την παραγωγή πενικιλίνης. α. εξηγήστε τις αλλαγές στην ανάπτυξη του *Saccharomyces* για τα διαστήματα 0-2, 2-6, 8-10, και 12-14 ώρες β. εντοπίστε τις φάσεις ανάπτυξης του μύκητα *Saccharomyces* σε σχέση με την παραγωγή αιθανόλης γ. εντοπίστε τις φάσεις ανάπτυξης του μύκητα *Penicillium* σε σχέση με την παραγωγή πενικιλίνης.



- α. Στο διάστημα 0-2 έχουμε τη λανθάνουσα φάση, στο διάστημα 2-6 έχουμε την εκθετική φάση, στο διάστημα 8-10 έχουμε τη στατική φάση, και στο διάστημα 12-14 ώρες έχουμε τη φάση θανάτου
- β. Η παραγωγή αιθανόλης ακολουθεί τις φάσεις ανάπτυξης του μύκητα *Saccharomyces*.
- γ. Η παραγωγή πενικιλίνης στη λανθάνουσα φάση είναι μηδενική. Στην αρχή της εκθετικής φάσης είναι ελάχιστη, αλλά αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου. Από το μέσο της εκθετικής φάσης και στη στατική φάση έχουμε μεγάλη αύξηση στην παραγωγή πενικιλίνης. Η μεγαλύτερη ποσότητα πενικιλίνης παράγεται κατά τη στατική φάση.

4. Ποιες είναι οι συνθήκες που πρέπει να ελέγχονται για την ανάπτυξη μικροοργανισμών σε βιοαντιδραστήρες; Για ποιο λόγο είναι απαραίτητη η διασφάλιση συνθηκών ασηψίας;

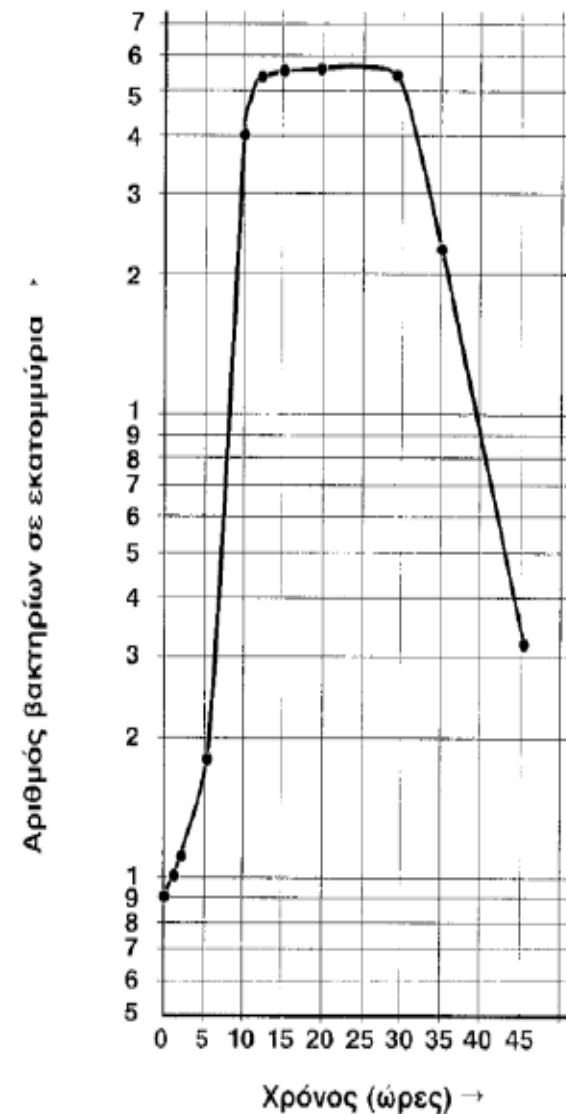


Για την ανάπτυξη μικροοργανισμών σε βιοαντιδραστήρες πρέπει να ελέγχονται το pH, η παρουσία ή απουσία O_2 και η θερμοκρασία. Η διασφάλιση συνθηκών ασηψίας είναι απαραίτητη, για να μην αναπτυχθούν άλλοι μικροοργανισμοί.



5. Στον πίνακα Α υπάρχουν τα αποτελέσματα μετρήσεων του αριθμού βακτηρίων από καλλιέργεια μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό στους 30° C. Χρησιμοποιώντας τα δεδομένα αυτά κατασκευάστε την καμπύλη μεταβολής του αριθμού των βακτηρίων σε συνάρτηση με το χρόνο. Εξηγήστε τους παράγοντες που επηρεάζουν το σχήμα της καμπύλης.

Χρόνος (ώρες)	Αριθμός βακτηρίων σε εκατομμύρια
0	9
1	10
2	11
5	18
10	400
12	550
15	550
20	550
30	550
35	225
45	30



Στην αρχή έχουμε τη λανθάνουσα φάση, κατά την οποία ο πληθυσμός των μικροοργανισμών που προέρχεται από την αρχική καλλιέργεια αυξάνεται με πολύ μικρό ρυθμό. Αυτό οφείλεται στο ότι οι μικροοργανισμοί χρειάζονται κάποιο χρονικό διάστημα, για να προσαρμοστούν στις καινούριες συνθήκες και να αρχίσουν να αναπτύσσονται. Στη συνέχεια, έχουμε την εκθετική φάση, κατά την οποία οι μικροοργανισμοί διαιρούνται με ταχύ ρυθμό, επειδή η καλλιέργεια πραγματοποιείται κάτω από άριστες συνθήκες θερμοκρασίας, pH, συγκέντρωσης O_2 και επειδή στο υλικό της καλλιέργειας υπάρχουν άφθονα θρεπτικά συστατικά. Στην εκθετική φάση ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται εκθετικά, Ακολουθεί η στατική φάση, κατά την οποία ο πληθυσμός των βακτηρίων δεν αυξάνεται (Ο αριθμός των βακτηρίων που παράγονται είναι περίπου ίσος με τον αριθμό των βακτηρίων που θανατώνονται) λόγω εξάντλησης κάποιου θρεπτικού συστατικού ή συσσώρευσης τοξικών προϊόντων από το μεταβολισμό των βακτηρίων, Τέλος, έχουμε τη φάση θανάτου κατά την οποία ο αριθμός των βακτηρίων μειώνεται



ΛΥΣΕΙΣ ΣΧΟΛΙΚΟΥ ΒΙΒΛΙΟΥ



1. Συμπληρώστε με τις κατάλληλες λέξεις τα κενά:
Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού είναι η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, το , το, και η Σε μια μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια μικροοργανισμών χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές, οι, Προϊόντα της ζύμωσης είναι η η τα Κατά τη λανθάνουσα φάση ο πληθυσμός των μικροοργανισμών παραμένει Η φάση κατά την οποία ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται με ταχύ ρυθμό ονομάζεται

Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού είναι η διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών, το pH, το O₂, και η θερμοκρασία. Σε μια μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια μικροοργανισμών χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές, οι βιοαντι-δραστήρες (ή ζυωτήρες). Προϊόντα της ζύμωσης είναι η βιομάζα ή τα προϊόντα κυττάρων. Κατά τη λανθάνουσα φάση ο πληθυσμός των μικροοργανισμών παραμένει σταθερός. Η φάση κατά την οποία ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται με ταχύ ρυθμό ονομάζεται εκθετική.

2. Για την παραλαβή ενός προϊόντος που εκκρίνεται από κύτταρα στρεπτομύκητα ακολουθούνται τα παρακάτω στάδια.

Διαγράψτε εκείνο που δεν ισχύουν:

- α. διαχωρισμός και παραλαβή των κυττάρων του μύκητα
- β. διαχωρισμός των υγρών από το στερεά συστατικά
- γ. παραλαβή των υγρών συστατικών
- δ. παραλαβή των στερεών συστατικών
- ε. καθαρισμός του επιθυμητού προϊόντος

Δεν ισχύουν τα α. και δ.



3. Στις παρακάτω γραφικές παραστάσεις απεικονίζεται η ανάπτυξη δύο μικροοργανισμών του *Saccharomyces* και του *Penicillium* και η παραγωγή προϊόντων τους, όταν αυτοί καλλιεργηθούν σε βιοαντιδραστήρες. Η καμπύλη Α αφορά την ανάπτυξη του ζυμομύκητα *Saccharomyces* και την παραγωγή αιθανόλης, ενώ η καμπύλη Β την ανάπτυξη του μύκητα *Penicillium* και την παραγωγή πενικιλίνης.

α. εξηγήστε τις αλλαγές στην ανάπτυξη του *Saccharomyces* για τα διαστήματα 0-2, 2-6, 8-10, και 12-14 ώρες

β. εντοπίστε τις φάσεις ανάπτυξης του μύκητα *Saccharomyces* σε σχέση με την παραγωγή αιθανόλης

γ. εντοπίστε τις φάσεις ανάπτυξης του μύκητα *Penicillium* σε σχέση με την παραγωγή πενικιλίνης.

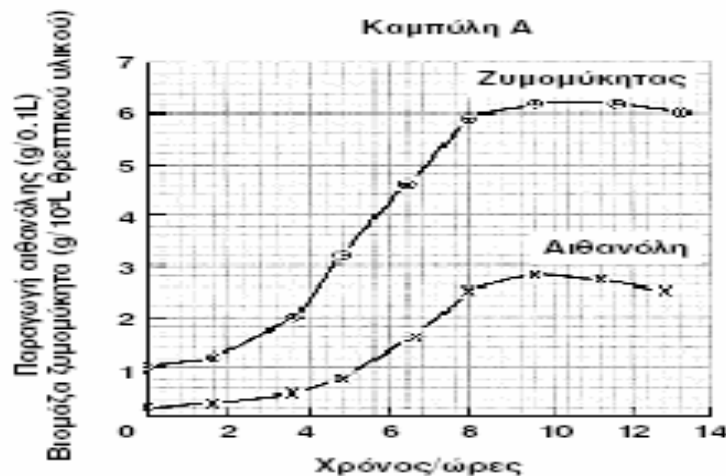
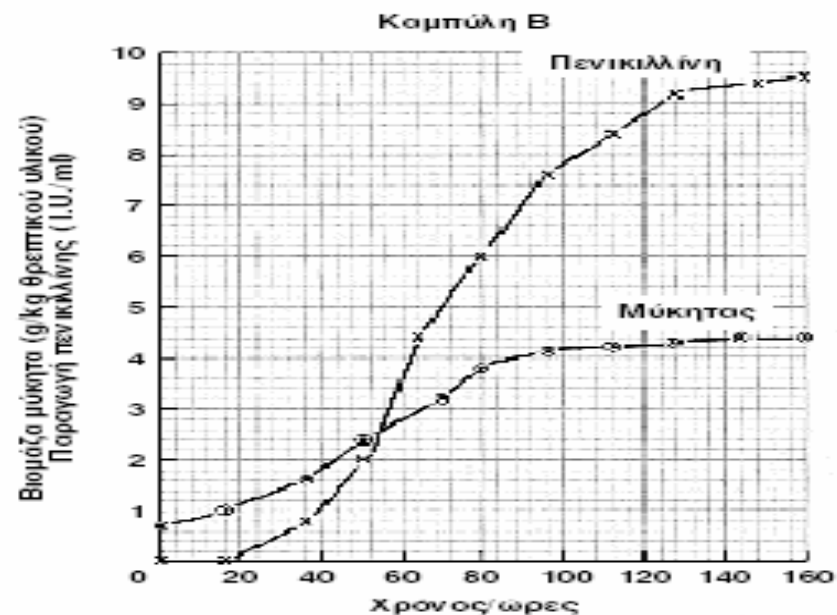


Figure 5.14



- α. Στο διάστημα 0-2 έχουμε τη λανθάνουσα φάση, στο διάστημα 2-6 έχουμε την εκθετική φάση, στο διάστημα 8-10 έχουμε τη στατική φάση, και στο διάστημα 12-14 ώρες έχουμε τη φάση θανάτου
- β. Η παραγωγή αιθανόλης ακολουθεί τις φάσεις ανάπτυξης του μύκητα *Saccharomyces*.
- γ. Η παραγωγή πενικιλίνης στη λανθάνουσα φάση είναι μηδενική. Στην αρχή της εκθετικής φάσης είναι ελάχιστη, αλλά αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου. Από το μέσο της εκθετικής φάσης και στη στατική φάση έχουμε μεγάλη αύξηση στην παραγωγή πενικιλίνης. Η μεγαλύτερη ποσότητα πενικιλίνης παράγεται κατά τη στατική φάση.

4. Ποιες είναι οι συνθήκες που πρέπει να ελέγχονται για την ανάπτυξη μικροοργανισμών σε βιοαντιδραστήρες; Για ποιο λόγο είναι απαραίτητη η διασφάλιση συνθηκών ασηψίας;

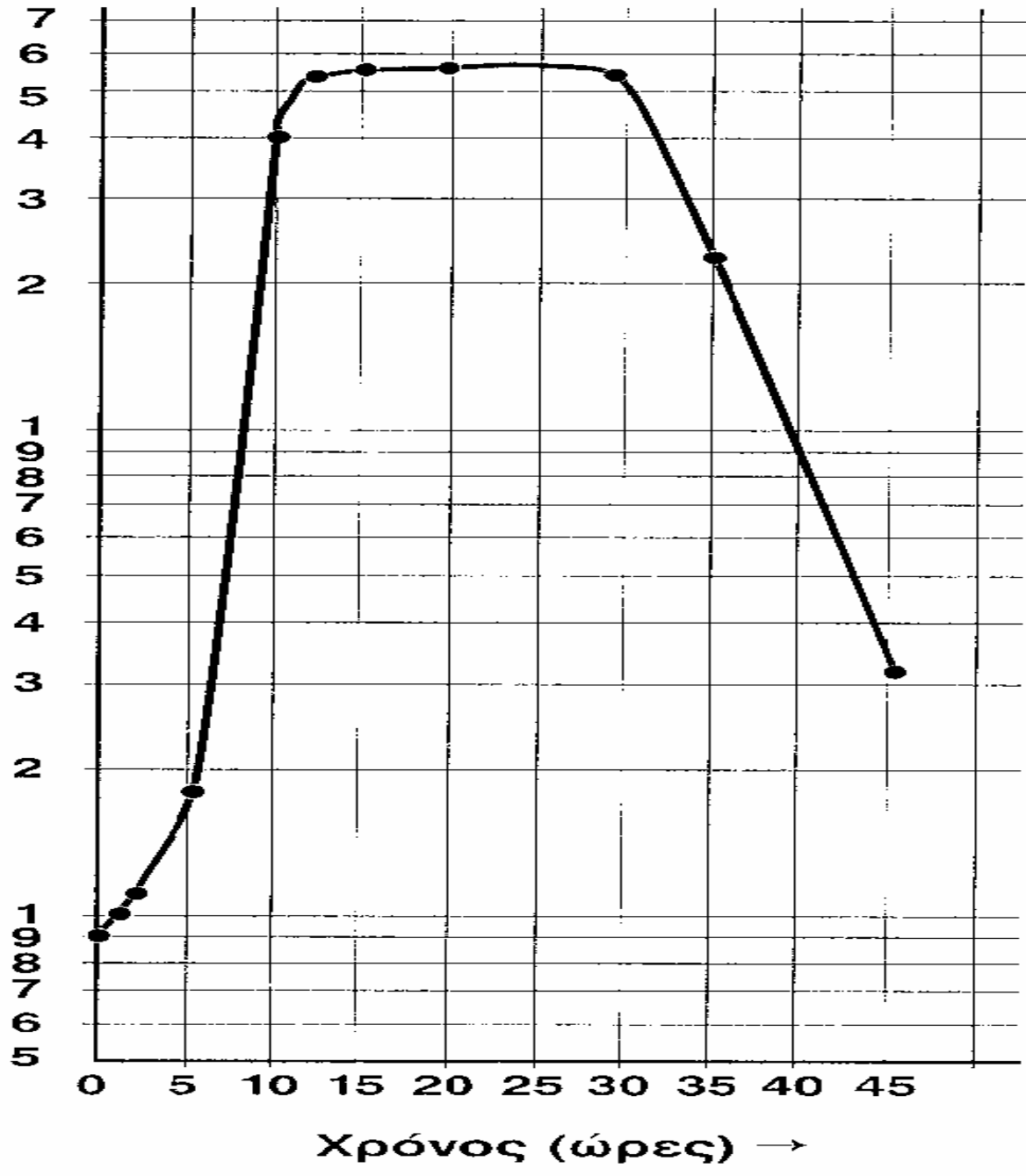
Για την ανάπτυξη μικροοργανισμών σε βιοαντιδραστήρες πρέπει να ελέγχονται το pH, η παρουσία ή απουσία O₂ και η θερμοκρασία. Η διασφάλιση συνθηκών ασηψίας είναι απαραίτητη, για να μην αναπτυχθούν άλλοι μικροοργανισμοί.

5. Στον πίνακα Α υπάρχουν τα αποτελέσματα μετρήσεων του αριθμού βακτηρίων από καλλιέργεια μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό στους 30° C. Χρησιμοποιώντας τα δεδομένα αυτά κατασκευάστε την καμπύλη μεταβολής του αριθμού των βακτηρίων σε συνάρτηση με το χρόνο. Εξηγήστε τους παράγοντες που επηρεάζουν το σχήμα της καμπύλης.

Χρόνος (ώρες)	Αριθμός βακτηρίων σε εκατομμύρια
0	9
1	10
2	11
5	18
10	400
12	550
15	550
20	550
30	550
35	225
45	30

Στην αρχή έχουμε τη λανθάνουσα φάση, κατά την οποία ο πληθυσμός των μικροοργανισμών που προέρχεται από την αρχική καλλιέργεια αυξάνεται με πολύ μι-κρό ρυθμό. Αυτό οφείλεται στο ότι οι μικροοργανισμοί χρειάζονται κάποιο χρονικό διάστημα, για να προσαρμοστούν στις καινούριες συνθήκες και να αρχίσουν να αναπτύσσονται. Στη συνέχεια, έχουμε την εκθετική φάση, κατά την οποία οι μικροοργανισμοί διαιρούνται με ταχύ ρυθμό, επειδή η καλλιέργεια πραγματοποιείται κάτω από άριστες συνθήκες θερμοκρασίας, pH, συγκέντρωσης O_2 και επειδή στο υ-λικό της καλλιέργειας υπάρχουν άφθονα θρεπτικά συστατικά. Στην εκθετική φάση ο αριθμός των μι-κροοργανισμών αυξάνεται εκθετικά, Ακολουθεί η στατική φάση, κατά την οποία ο πληθυσμός των βακτηρίων δεν αυξάνεται (ο αριθμός των βακτηρίων που πα-ράγονται είναι περίπου ίσος με τον αριθμό των βακτηρίων που θανατώνονται) λόγω εξάντλησης κάποιου θρεπτικού συστατικού ή συσσώρευσης τοξικών προϊόντων από το μεταβολισμό των βακτηρίων, Τέλος, έχουμε τη φάση θανάτου κατά την οποία ο αριθμός των βακτηρίων μειώνεται

Αριθμός βακτηρίων σε εκατομμύρια >



ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΕΝΝΟΙΩΝ ΣΤΗ
ΒΙΟΛΟΓΙΑ Γ ΛΥΚΕΙΟΥ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ

Κεφάλαιο Όγδοο
Ενότητα: Εφαρμογές
Βιοτεχνολογίας στην Ιατρική

Σε ποιους βασικούς στόχους της
Ιατρικής συμβάλλει η Βιοτεχνολογία;



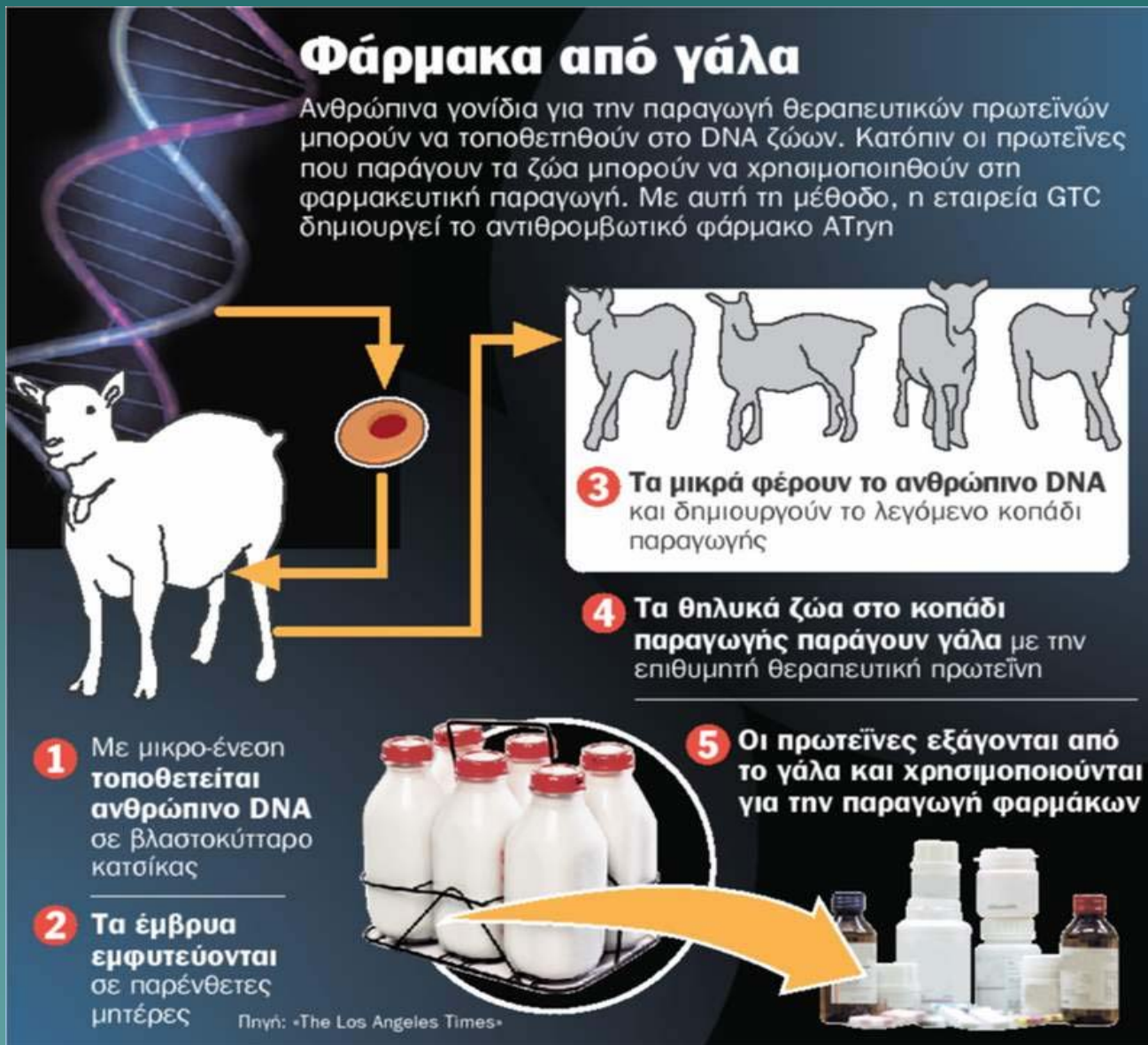
Η Βιοτεχνολογία έχει συμβάλει αποτελεσματικά σε τρεις βασικούς στόχους της Ιατρικής, που είναι η έγκαιρη **διάγνωση** μιας ασθένειας, η **πρόληψη** και η αποτελεσματική **θεραπεία** της.

Η **έγκαιρη διάγνωση** μιας ασθένειας απαιτεί την ανάπτυξη ευαίσθητων τεχνικών, που μπορούν να εντοπίσουν την ασθένεια στα αρχικά της στάδια πριν να εμφανιστούν τα συμπτώματα της στον οργανισμό, να ανιχνεύσουν κάποια μόλυνση από παθογόνους οργανισμούς ή να διαπιστώσουν την ύπαρξη κάποιας κληρονομικής ασθένειας.

Η **πρόληψη** σοβαρών ασθενειών όπως η ηπατίτιδα Β, η πολιομυελίτιδα και η φυματίωση χρειάζονται πιο εξελιγμένα, επαρκώς ασφαλή αλλά και οικονομικά προσιτά εμβόλια. Επίσης η ανάπτυξη εμβολίων για την πρόληψη ασθενειών όπως το AIDS, η μηνιγγίτιδα, και ο καρκίνος είναι πλέον επιτακτική ανάγκη.

Η **αποτελεσματική θεραπεία** προϋποθέτει την κατανόηση των βιοχημικών μηχανισμών και του γενετικού υπόβαθρου της ασθένειας, για να εφαρμοστεί η κατάλληλη θεραπεία είτε με φαρμακευτική αγωγή είτε ακόμη και με «γενετική διόρθωση» της βλάβης.

Ποιος είναι ο σύγχρονος τρόπος βιοτεχνολογικής παραγωγής φαρμακευτικών πρωτεϊνών; Να δοθούν παραδείγματα



Η Βιοτεχνολογία συνεισφέρει ουσιαστικά στους παραπάνω στόχους με την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυσμένου DNA, με τη χρήση της τεχνικής PCR, καθώς και ανιχνευτών DNA. Οι τεχνικές αυτές βρίσκουν εφαρμογή στη βελτίωση και παραγωγή σε ευρεία κλίμακα ευαίσθητων διαγνωστικών ουσιών όπως τα μονοκλωνικά αντισώματα, αποτελεσματικών εμβολίων και φαρμακευτικών προϊόντων. Πρόσφατα, ένας νέος τομέας της Βιοτεχνολογίας αναπτύσσεται ταχύτατα, η **γονιδιακή θεραπεία**, που στηρίζεται στη εφαρμογή της τεχνολογίας του ανασυνδυσμένου DNA στη θεραπεία πολλών σοβαρών γενετικών ασθενειών όπως η κυστική ίνωση, το σύνδρομο επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS) και διάφοροι τύποι καρκίνου.

Μερικές πρωτεΐνες που έχουν παραχθεί με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA είναι η ινσουλίνη, η ερυθροποιητίνη, η αυξητική ορμόνη, οι ιντερφερόνες, οι ιντερλευκίνες κ.α.

Σήμερα, παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών μπορεί να γίνει και από διαγονιδιακά ζώα.

Τι είναι η ινσουλίνη και ποιος ο ρόλος της;



Η **ινσουλίνη** είναι μια ορμόνη, που αποτελείται από 51 αμινοξέα και παράγεται από ειδικά κύτταρα του παγκρέατος. Η ορμόνη αυτή ρυθμίζει το μεταβολισμό των υδατανθράκων και ειδικότερα το ποσοστό της γλυκόζης στο αίμα. Ο διαβήτης είναι μια ασθένεια που χαρακτηρίζεται από έλλειψη ή μείωση ινσουλίνης και υπολογίζεται ότι πάνω από 60.000.000 άτομα στον κόσμο πάσχουν από διαβήτη.

Η ινσουλίνη χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των διαβητικών ατόμων. Πριν από το 1982 οι κύριες πηγές ινσουλίνης ήταν το πάγκρεας από χοίρους και από βοοειδή. Η ινσουλίνη παραγόταν από την εκχύλιση αυτών των ιστών με μια δαπανηρή και πολύπλοκη διαδικασία και επιπλέον, επειδή είχε μικρές διαφορές στη σύσταση των αμινοξέων της από την ανθρώπινη, προκαλούσε αλλεργικές αντιδράσεις.

Η ινσουλίνη αποτελείται από δύο μικρά πεπτίδια, Α και Β, που συγκρατούνται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς. Το γονίδιο της ινσουλίνης παράγει ένα πρόδρομο μόριο, την προϊνσουλίνη, το οποίο μετατρέπεται τελικά σε ινσουλίνη.

Πως παραγόταν η ινσουλίνη στο παρελθόν, και πως παράγεται σήμερα;



ΠΡΙΝ

Η ινσουλίνη χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των διαβητικών ατόμων. Πριν από το 1982 οι κύριες πηγές ινσουλίνης ήταν το πάγκρεας από χοίρους και από βοοειδή. Η ινσουλίνη παραγόταν από την εκχύλιση αυτών των ιστών με μια δαπανηρή και πολύπλοκη διαδικασία και επιπλέον, επειδή είχε μικρές διαφορές στη σύσταση των αμινοξέων της από την ανθρώπινη, προκαλούσε αλλεργικές αντιδράσεις.

ΤΩΡΑ

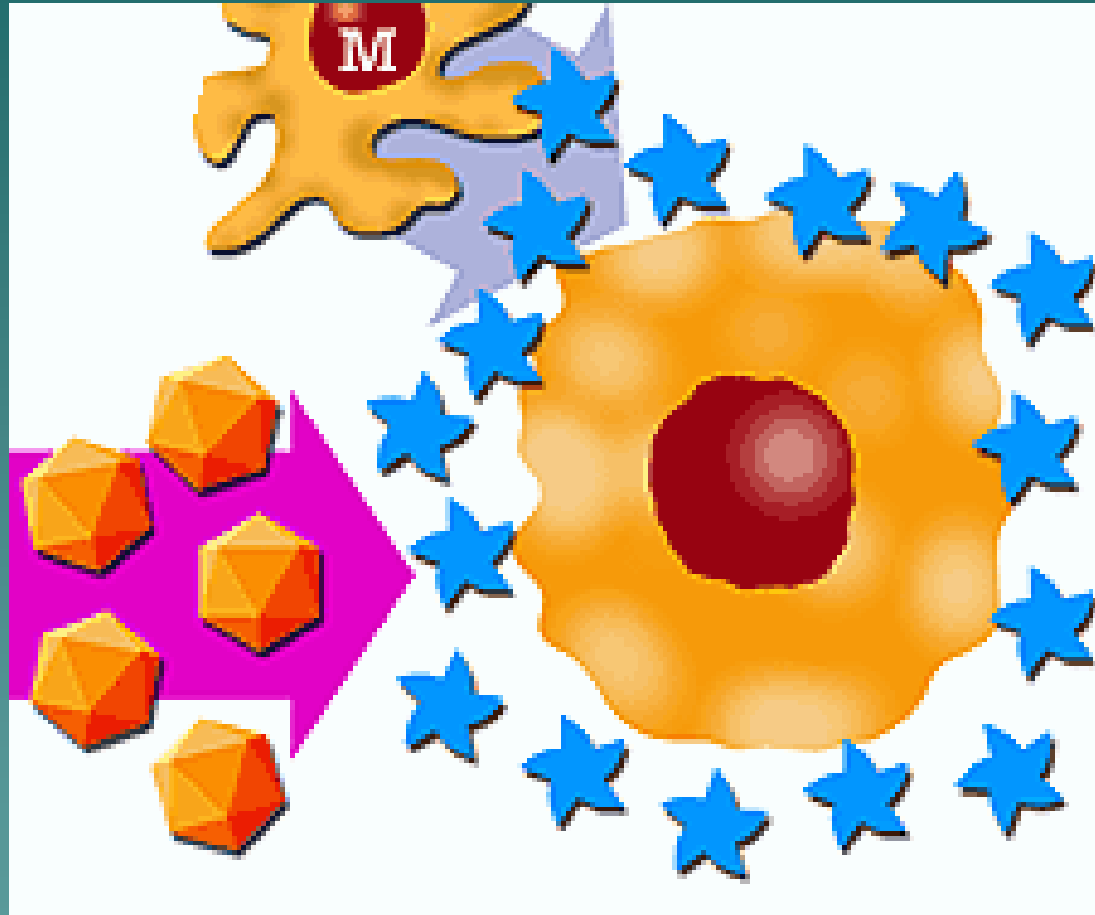
Μια από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή της ανθρώπινης ινσουλίνης στα βακτήρια είναι η παραγωγή του πρόδρομου μορίου της σε μια βακτηριακή καλλιέργεια και η μετατροπή της σε ινσουλίνη με ενζυμική κατεργασία.

Η μέθοδος περιλαμβάνει την κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης από τα κύτταρα του παγκρέατος στα οποία εκφράζεται το γονίδιο της ινσουλίνης και την επιλογή του κλώνου που περιέχει το γονίδιο.

Συνοπτικά τα στάδια κλωνοποίησης και απομόνωσης του γονιδίου της ινσουλίνης είναι:

- Απομόνωση του συνολικού mRNA, από κύτταρα του ανθρώπινου παγκρέατος.
- Κατασκευή δίκλωνων μορίων DNA και ενσωμάτωση τους σε πλασμίδια.
- Μετασχηματισμός βακτηρίων με τα ανασυνδυασμένα πλασμίδια και πολλαπλασιασμός τους σε υγρό θρεπτικό υλικό.
- Επιλογή των βακτηρίων που περιέχουν το γονίδιο το οποίο κωδικοποιεί το πρόδρομο μόριο της ινσουλίνης.
- Ανάπτυξη των βακτηρίων αυτών σε βιοαντιδραστήρα για παραγωγή του πρόδρομου μορίου της ινσουλίνης. Η προϊνσουλίνη συλλέγεται και με κατάλληλο ένζυμο, που αφαιρεί το ενδιάμεσο πεπτίδιο, μετατρέπεται σε ινσουλίνη.

Τι είναι οι ιντερφερόνες και πως παράγονται σήμερα;



Οι ιντερφερόνες είναι αντικές πρωτεΐνες, που παράγονται από κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιούς. Οι πρωτεΐνες αυτές, επάγουν την παραγωγή άλλων πρωτεϊνών από τα γειτονικά υγιή κύτταρα οι οποίες εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των ιών σ' αυτά. Οι ιντερφερόνες είναι οικογένεια συγγενών πρωτεϊνών, που ταξινομούνται ανάλογα με τη χημική και βιολογική ενεργότητα τους σε τρεις ομάδες: τις ιντερφερόνες α, β και γ.

Οι ιντερφερόνες έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως αντικοί και πιθανόν ως αντικαρκινικοί παράγοντες. Παράγονται σε ελάχιστες ποσότητες στο σώμα και γι' αυτό δεν ήταν η ευρεία χρήση τους στη θεραπεία ασθενειών. Όμως, μετά την κλωνοποίηση ορισμένων γονιδίων ιντερφερονών, είναι σήμερα δυνατή η παραγωγή τους σε μεγάλες ποσότητες, με παρόμοια μέθοδο παραγωγής με αυτή της ινσουλίνης.

Τι είναι η αυξητική ορμόνη και πως παράγεται σήμερα;



Η αυξητική ορμόνη παίζει ρόλο στη φυσιολογική ανάπτυξη του οργανισμού και παράγεται από την υπόφυση. Η απουσία της από τον οργανισμό οδηγεί σε νανισμό, ενώ η υπερπαραγωγή της σε γιγαντισμό. Σήμερα παράγεται με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA. Η εύκολη παραγωγή της θα βοηθήσει στη θεραπεία τραυμάτων και εγκαυμάτων.

Πρωτεΐνη	Χρήση
α1-αντιθρυψίνη	θεραπεία εμφυσήματος
καλσιτονίνη	θεραπεία οστεοπόρωσης
χοριονική γοναδοτροπίνη	θεραπεία γυναικείας στειρότητας
ενδορφίνες και εγκεφαλίνες	αναλγητικοί παράγοντες
επιδερμικός αυξητικός παράγοντας	θεραπεία τραυμάτων
ερυθροποιητίνη	θεραπεία αναιμίας
παράγοντας VIII	θεραπεία αιμορροφιλίας α
παράγοντας IX	θεραπεία αιμορροφιλίας β
αυξητική ορμόνη	θεραπεία αχονδροπλασίας
ινσουλίνη	θεραπεία του διαβήτη
ιντερφερόνες (α, β, γ)	αντιικοί και αντικαρκινικοί παράγοντες
ιντερλευκίνες	θεραπεία καρκίνου και ασθενειών του ανοσοποιητικού συστήματος
παράγοντας νέκρωσης όγκων	αντικαρκινικός παράγοντας

Πίνακας 2. Φαρμακευτικές πρωτεΐνες που έχουν παραχθεί με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA

Τι είναι τα αντισώματα και τι τα μονοκλωνικά αντισώματα; Τι είναι το αντιγόνο και τι ο αντιγονικός καθοριστής;




«Το ιδανικό φάρμακο», είπε ο πρωτοπόρος Γερμανός γιατρός Ehrlich, «πρέπει να μπορεί να εξουδετερώνει τις μολύνσεις χωρίς να προκαλεί παρενέργειες στον οργανισμό». Η φύση έχει φτιάξει ένα τέλειο «φάρμακο», τα αντισώματα.

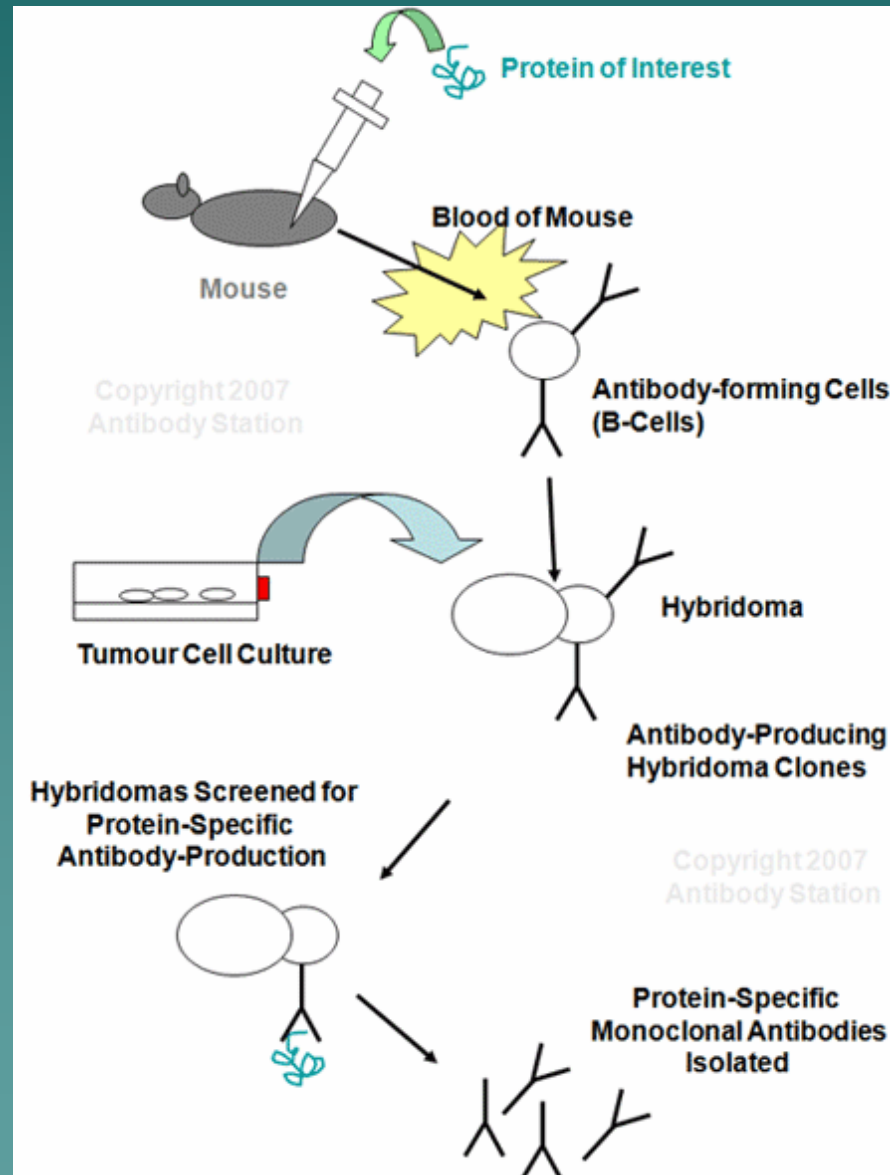
Τα αντισώματα είναι πρωτεϊνικά μόρια, που παράγονται από τα Β-λεμφοκύτταρα του ανοσοποιητικού μας συστήματος, όταν ένα αντιγόνο (παθογόνος μικροοργανισμός, ιός ή ξένο υλικό) προσβάλει τον οργανισμό. Τα αντισώματα αντιδρούν με το αντιγόνο και το εξουδετερώνουν.

Ο οργανισμός μας είναι ικανός να παράγει αντισώματα εναντίον κάθε ξένου αντιγόνου. Στην πραγματικότητα, ένα αντίσωμα αναγνωρίζει μόνο μια περιοχή μόνο 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.

Κάθε είδος αντισώματος που αναγνωρίζει έναν αντιγονικό καθοριστή παράγεται από μια ομάδα όμοιων Β-λεμφοκυττάρων, που αποτελούν έναν κλώνο. Τα αντισώματα που παράγεται από ένα κλώνο Β-λεμφοκυττάρων ονομάζεται **μονοκλωνικά**.



Πως παράγονται τα μονοκλωνικά αντισώματα; Τι είναι τα υβριδώματα;

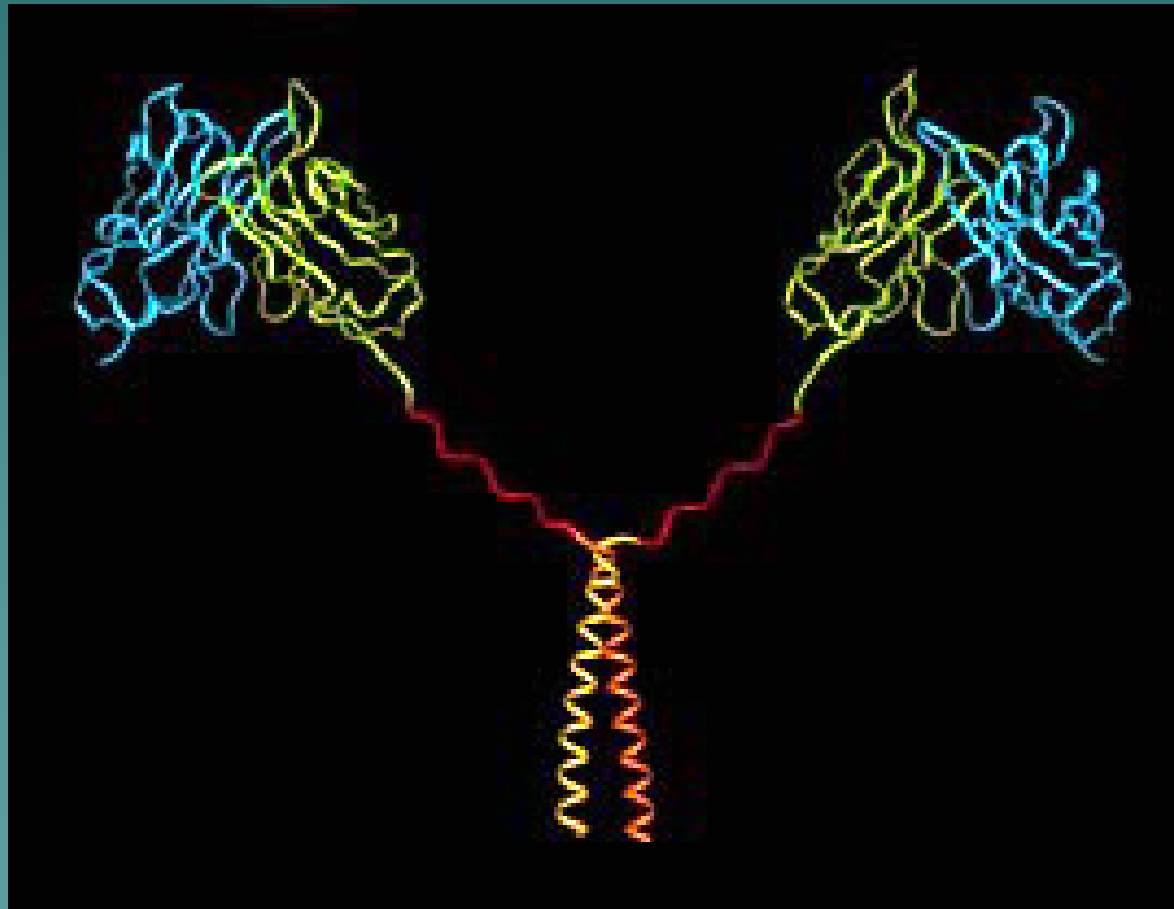


Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι πολύ σημαντικά στην Ιατρική και χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικά για την ανίχνευση ασθενειών ή ως εξειδικευμένα φάρμακα εναντίον παθογόνων μικροοργανισμών ή ακόμη καρκινικών κυττάρων. Ήταν, επομένως, σημαντικό να γίνει δυνατή η παραγωγή τους στο εργαστήριο σε μεγάλες ποσότητες. Όμως τα Β-λεμφοκύτταρα 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 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.

Που στηρίζονται και ποιες είναι
συνοπτικά οι εφαρμογές των
μονοκλωνικών αντισωμάτων;



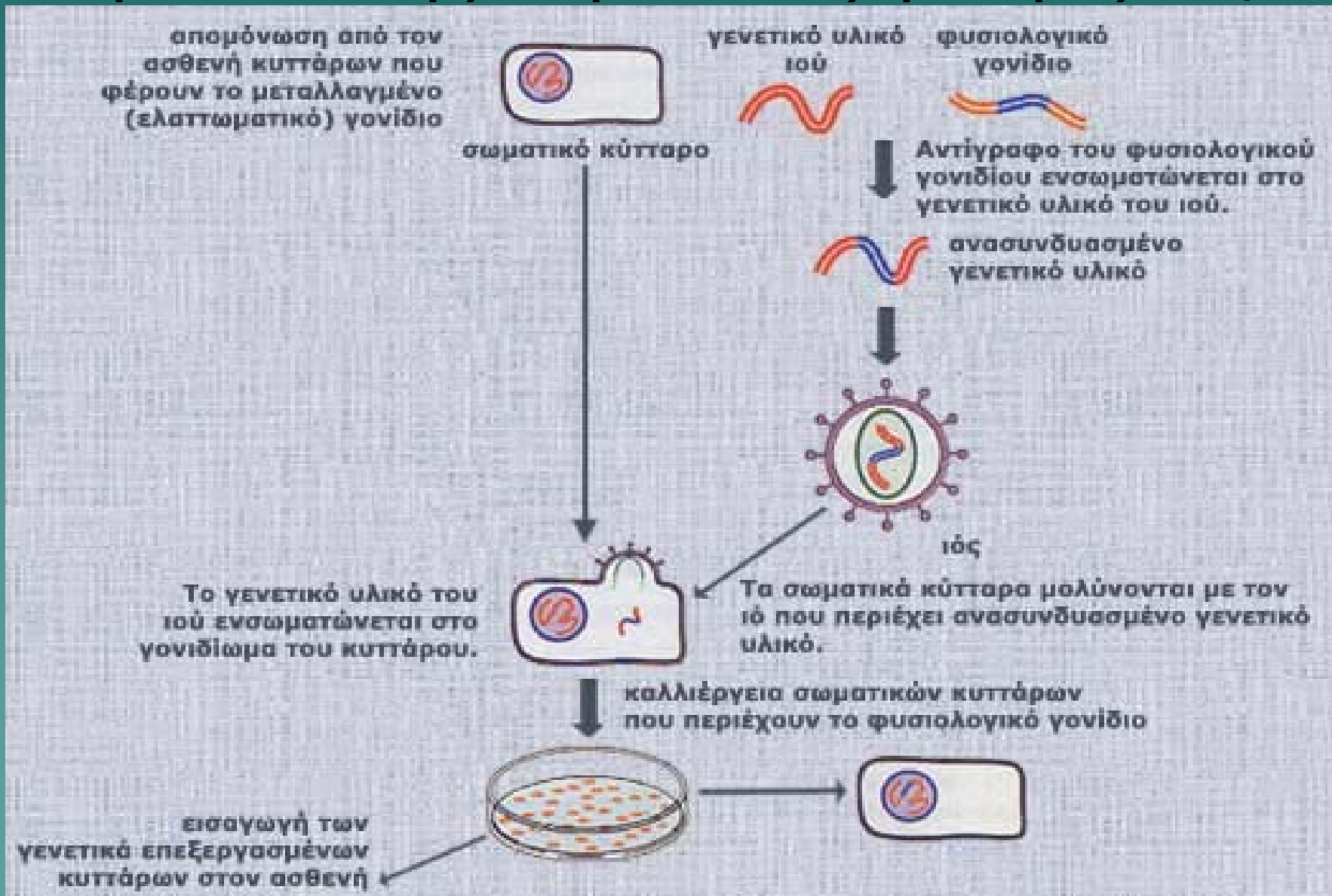
Τα μονοκλωνικά αντισώματα έχουν πολυάριθμες εφαρμογές και λειτουργούν ως:

- **Ανοσοδιαγνωστικά.** Τα μονοκλωνικά αντισώματα επειδή αναγνωρίζουν ειδικά έναν αντιγονικό καθοριστή, είναι πολύ χρήσιμα ως ανοσοδιαγνωστικά. Μπορούν να ανιχνεύσουν στα υγρά του σώματος (αίμα, ούρα κ.ά.) ουσίες που είναι υπεύθυνες για ποικίλες ασθένειες, παθογόνους μικροοργανισμούς, καθώς και τη διακύμανση της συγκέντρωσης διάφορων προϊόντων του μεταβολισμού, η οποία μπορεί να προοιωνίζει την πιθανότητα εμφάνισης κάποιας ασθένειας. Η τεχνική ανίχνευσης είναι γρήγορη, απλή, ευαίσθητη, ακριβής και επιτρέπει τη διάγνωση ασθενειών στα πολύ αρχικά στάδια τους δηλαδή πριν εμφανιστούν τα συμπτώματα. Τα αντισώματα θα συνεισφέρουν σημαντικά στην αύξηση της ευαισθησίας κλινικών δοκιμασιών όπως η τυποποίηση (προσδιορισμός) των ομάδων αίματος και 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.

- **Θεραπευτικά.** Τα αντισώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θεραπευτικά. Η πιο ενδιαφέρουσα εφαρμογή τους αφορά τη θεραπεία του καρκίνου. Τα καρκινικά κύτταρα έχουν στην εξωτερική επιφάνειά τους μεγάλη ποικιλία αντιγόνων που δεν υπάρχουν στα φυσιολογικά κύτταρα του οργανισμού, και ονομάζονται καρκινικά αντιγόνα. Έτσι μπορούν να κατασκευαστούν μονοκλωνικά αντισώματα εναντίον αυτών των αντιγόνων. Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι πολύ ειδικά μόνο για τα καρκινικά κύτταρα και μπορούν να «γίνουν μεταφορείς» ισχυρών αντικαρκινικών φαρμάκων. Όταν εισαχθούν στον οργανισμό, βρίσκουν και προσβάλλουν τους καρκίνους-στόχους. Τα αντικαρκινικά φάρμακα, που είναι συνδεδεμένα με τα αντισώματα, δρουν κατευθείαν στα καρκινικά κύτταρα και τα καταστρέφουν. Επιτρέπουν έτσι τη θεραπεία με αποφυγή της χειρουργικής επέμβασης και των δυσάρεστων επιπτώσεων της χημειοθεραπείας.


- **Για την επιλογή οργάνων συμβατών για μεταμόσχευση.** Τα κύτταρα των οργάνων έχουν στην επιφάνειά τους ειδικά αντιγόνα επιφανείας, που αναγνωρίζονται από ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα. Με τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορεί να γίνει έλεγχος των οργάνων δωρητών, για να διαπιστωθεί αν ταιριάζουν ανοσολογικά με τα αντίστοιχα των ασθενών. Έτσι, είναι δυνατόν να αποφευχθεί η απόρριψη και οι μεταμοσχεύσεις να είναι επιτυχείς.

Τι ονομάζεται γονιδιακή θεραπεία, ποιος ο στόχος της και ποιους τύπους γονιδιακής θεραπείας γνωρίζετε;



Περισσότερες από 4.000 ασθένειες οφείλονται σε γονιδιακές μεταλλάξεις και πολλές από αυτές εμφανίζονται στις μεγάλες ηλικίες. Μερικές οφείλονται σε ένα μόνο γονίδιο, άλλες σε αλληλεπίδραση δύο ή περισσότερων γονιδίων και ακόμη περισσότερες σε συνδυασμό γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων όπως η ακτινοβολία και οι χημικές ουσίες. Όλες σχεδόν οι γενετικές ασθένειες προκαλούν δυσμορφίες, το 80% όλων διανοητική καθυστέρηση και το ένα πέμπτο από αυτές θάνατο στην παιδική ηλικία.

Έως πρόσφατα η μοριακή βάση των ασθενειών αυτών δεν ήταν γνωστή. Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA σε συνδυασμό με τις μεθόδους της παραδοσιακής γενετικής (γενεαλογικά δένδρα) οδήγησε στον εντοπισμό της θέσης στα χρωμοσώματα (χαρτογράφηση) πολλών μεταλλαγμένων γονιδίων, που προκαλούν τις αντίστοιχες ασθένειες. Επιπλέον ορισμένα μεταλλαγμένα γονίδια κλωνοποιήθηκαν και συγκρίθηκαν με τα φυσιολογικά αλληλόμορφα τους, για να εξακριβωθεί το είδος των μεταλλάξεων. Η χαρτογράφηση όλων των γονιδίων στα χρωμοσώματα είναι ένας από τους κύριους στόχους του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος, όπως θα αναφερθεί παρακάτω. Σήμερα έχουν χαρτογραφηθεί και κλωνοποιηθεί τα γονίδια των οποίων οι μεταλλάξεις είναι υπεύθυνες για ασθένειες όπως η κυστική ίνωση, η ασθένεια του Huntington και η μυϊκή δυστροφία Duchenne.



Οι γνώσεις αυτές έδωσαν την δυνατότητα ανάπτυξης θεραπείας που στηρίζεται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA και ονομάζεται **γονιδιακή θεραπεία**. Αυτή έχει ως στόχο να «διορθώσει» τη γενετική βλάβη εισάγοντας στους ασθενείς φυσιολογικά αλληλόμορφα του μεταλλαγμένου γονιδίου. Απαραίτητη προϋπόθεση για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας είναι, εκτός από την κλωνοποίηση του υπεύθυνου γονιδίου, και ο προσδιορισμός των κυττάρων που εμφανίζουν τη βλάβη από την ασθένεια.

Η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το Σεπτέμβριο του 1990 σε ένα τετράχρονο κορίτσι που έπασχε από ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος. Η ασθένεια αυτή οφείλεται στην έλλειψη του ενζύμου **απαμινάση της αδενοσίνης (ADA)**, που παίρνει μέρος στον μεταβολισμό των πουρινών στα κύτταρα του μυελού των οστών. Η έλλειψη οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου που παράγει το ένζυμο αυτό. Η ασθένεια εμφανίζει αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Οι ασθενείς πάσχουν από χρόνιες μολύνσεις, έχουν προδιάθεση για ανάπτυξη καρκίνου σε πολύ μικρή ηλικία και πολλοί πεθαίνουν ύστερα από λίγους μήνες ζωής. Είναι γνωστή η περίπτωση ενός παιδιού που έζησε εννέα χρόνια σε έναν πλαστικό θάλαμο, για να εμποδιστεί η επαφή του με ιούς, επειδή το ανοσοποιητικό του σύστημα δεν μπορούσε να τους καταπολεμήσει.

Οι τύποι γονιδιακής θεραπείας είναι ex vivo και in vivo. Στον πρώτο τύπο τα κύτταρα τροποποιούνται εκτός οργανισμού, ενώ στο δεύτερο τα κύτταρα τροποποιούνται μέσα στο σώμα ασθενούς.

Πότε και με ποια διαδικασία εφαρμόστηκε
για πρώτη φορά γονιδιακή θεραπεία;



Η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το Σεπτέμβριο του 1990 σε ένα τετράχρονο κορίτσι που έπασχε από ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος. Η ασθένεια αυτή οφείλεται στην έλλειψη του ενζύμου **απαμινάση της αδενοσίνης (ADA)**, που παίρνει μέρος στον μεταβολισμό των πουρινών στα κύτταρα του μυελού των οστών. Η έλλειψη οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου που παράγει το ένζυμο αυτό. Η ασθένεια εμφανίζει αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Οι ασθενείς πάσχουν από χρόνιες μολύνσεις, έχουν προδιάθεση για ανάπτυξη καρκίνου σε πολύ μικρή ηλικία και πολλοί πεθαίνουν ύστερα από λίγους μήνες ζωής. Είναι γνωστή η περίπτωση ενός παιδιού που έζησε εννέα χρόνια σε έναν πλαστικό θάλαμο, για να εμποδιστεί η επαφή του με ιούς, επειδή το ανοσοποιητικό του σύστημα δεν μπορούσε να τους καταπολεμήσει.

Η διαδικασία που ακολουθείται στη γονιδιακή θεραπεία της ADA ήταν η εξής:

- Λεμφοκύτταρα του κοριτσιού παραλαμβάνονται και πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργειες.
- Το φυσιολογικό γονίδιο της απαμινάσης της αδενοσίνης ενσωματώνεται σε ένα φορέα-ιό (ο οποίος έχει καταστεί αβλαβής) με τις τεχνικές του ανασυδρασμένου DNA.
- Ο γενετικά τροποποιημένος ιός εισάγεται στα λεμφοκύτταρα
- Τα γενετικά τροποποιημένα λεμφοκύτταρα εισάγονται με ενδοφλέβια ένεση στο παιδί και παράγουν το ένζυμο ADA.

Βέβαια τα τροποποιημένα λεμφοκύτταρα δε ζουν για πάντα μέσα στον οργανισμό-δηλαδή η θεραπεία δεν είναι μόνιμη-και χρειάζεται συνεχής έγχυση τέτοιων κυττάρων. Όμως, όπως στην περίπτωση των διαβητικών, τα άτομα μπορούν να ζουν φυσιολογικά, κάνοντας σε κανονικά χρονικά διαστήματα αυτή τη θεραπεία.

Ο τύπος αυτός της γονιδιακής θεραπείας ονομάζεται *ex vivo*, γιατί τα κύτταρα τροποποιούνται έξω από τον οργανισμό και εισάγονται πάλι σ' αυτόν.

Τα κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος μπορούν να τροποποιούνται γενετικά, να αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργειες και να εισάγονται με ενδοφλέβια ένεση στον οργανισμό. Τι γίνεται όμως αν πρέπει να τροποποιηθούν κύτταρα ενός άλλου οργάνου όπως ο πνεύμονας; Ο Anderson και οι συνεργάτες του πρότειναν μια άλλη προσέγγιση. Ανέπτυξαν «έξυπνους» φορείς, οι οποίοι προσβάλλουν ειδικά τα κύτταρα του ιστού που πάσχει. Συγκεκριμένα, τα φυσιολογικά γονίδια ενσωματώνονται σε μόρια-φορείς, που εισάγονται κατευθείαν στον οργανισμό. Το είδος αυτό της γονιδιακής θεραπείας ονομάζεται *in vivo* και εφαρμόστηκε για τη θεραπεία της κυστικής ίνωσης το 1993..

Το 1990 σε κορίτσι που έπασχε από έλλειψη ενζύμου απαμινάση της αδενοσίνης (ADA), μια ασθένεια του ανοσοποιητικού συστήματος που προκαλεί χρόνιες μολύνσεις, ακόμη και καρκίνο. Η διαδικασία ήταν η εξής:

→ Λήψη λεμφοκυττάρων από το αιμοποιητικό σύστημα, δηλαδή τον μυελό των οστών, και πολλαπλασιασμό τους σε κυτταροκαλλιέργειες.

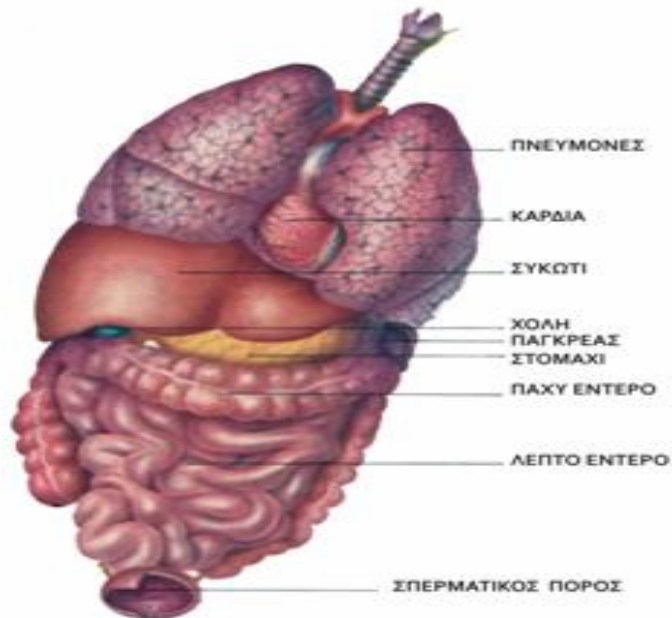
→ Ενσωμάτωση του φυσιολογικού γονιδίου σε ιό – φορέα, ο οποίος προηγουμένως είχε καταστεί αβλαβής.

→ Εισαγωγή τροποποιημένου ιού στα λεμφοκύτταρα (διαμόλυνση) και ανάπτυξή τους σε κυτταλοκαλλιέργεια.

→ Εισαγωγή των τροποποιημένων λεμφοκυττάρων στην ασθενή με ενδοφλέβια ένεση.

Αποτέλεσμα της παραπάνω διαδικασίας (ex vivo γονιδιακή θεραπεία) ήταν η παραγωγή από την ασθενή του ενζύμου ADA. Η μέθοδος αυτή δεν είναι μόνιμη και χρειάζεται συνεχής έγχυση τέτοιων κυττάρων στον ασθενή.

ΚΥΣΤΙΚΗ ΙΝΩΣΗ



ΥΓΙΕΙΣ ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ



Στην ΚΙΝ παχύρρευστη βλέννα φράσσει τους βρόγχους των πνευμόνων και οδηγεί σε λοιμώξεις και αναπνευστική ανεπάρκεια.

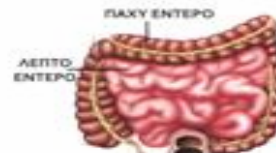
ΒΡΟΓΧΟΣ



1-2 ΒΡΟΓΧΙΟΛΙΟ
3-4 ΚΥΨΕΛΙΔΑ
5 ΑΙΜΟΦΟΡΑ ΑΓΓΕΙΑ
6 ΒΥΣΜΑ ΒΛΕΝΝΗΣ



Ποσοστό 90% των ασθενών παρουσιάζει βαρεία παγκρεατική ανεπάρκεια και δεν παράγονται τα απαιτούμενα ένζυμα για την πέψη των τροφών. Κάποιοι από αυτούς, πιθανόν να αναπτύξουν σακχαρώδη διαβήτη.

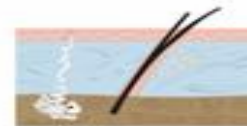


Οι ασθενείς που είναι παγκρεατικά ανεπαρκείς, μερικές φορές παρουσιάζουν περιστατικά απόφραξης εντέρων(ειλεός). Σε αρκετές περιπτώσεις, η διάγνωση της νόσου γίνεται εξαιτίας της ύπαρξης ειλεού εκ μηκυνίου.



Σε ποσοστό 6%, οι ασθενείς εμφανίζουν σοβαρή ηπατική ανεπάρκεια η οποία οδηγεί σταδιακά σε κίρρωση.

Ποσοστό 10% των ασθενών παρουσιάζει πέτρες στη χολή.



Χαρακτηριστικό της νόσου, ο πολύ αλμυρός ιδρώτας και οι παχύρρευστες αφυδατωμένες εκκρίσεις.



Τι είναι η κυστική ίνωση και πως εφαρμόζεται η γονιδιακή θεραπεία για την αντιμετώπισή της;



Η κυστική ίνωση οφείλεται σε μεταλλάξεις ενός γονιδίου, το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη, που είναι απαραίτητη για τη σωστή λειτουργία των επιθηλιακών κυττάρων των πνευμόνων. Η ασθένεια παρουσιάζει υπολειπόμενη αυτοσωμική κληρονομικότητα και επηρεάζει πρωτίστως τη λειτουργία των πνευμόνων.

Το φυσιολογικό γονίδιο, ενσωματώθηκε αρχικά σε έναν αδενοϊό. Ο ανασυνδυασμένος ιός εισήλθε στον οργανισμό με ψεκασμό με τη βοήθεια βρογχοσκοπίου και μόλυνε τα κύτταρα του αναπνευστικού συστήματος. Μετά την εισαγωγή του στα κύτταρα το φυσιολογικό γονίδιο ενσωματώθηκε στο γονιδίωμά τους και παράγαγε το φυσιολογικό προϊόν.

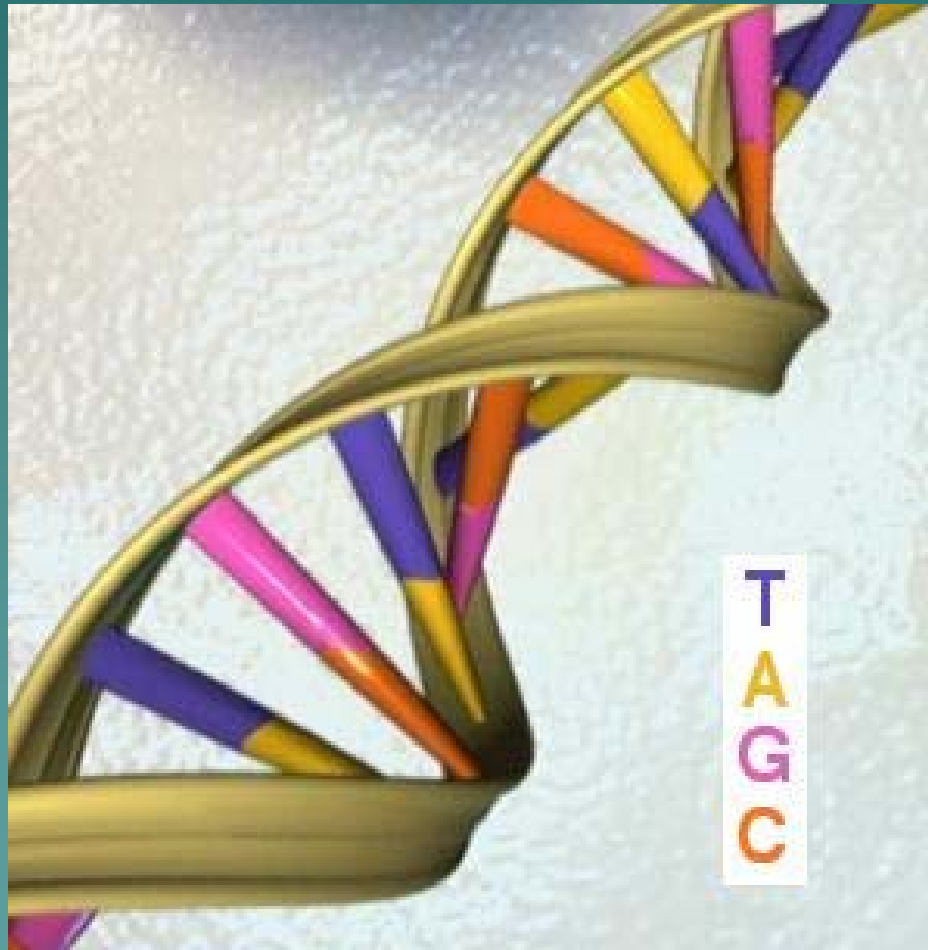
Ποια τα βασικά μειονεκτήματα της γονιδιακής θεραπείας; Πότε επιλέγουμε ex vivo και πότε in vivo γονιδιακή θεραπεία;

Έως πρόσφατα η πιθανότητα επιτυχούς γονιδιακής θεραπείας ανήκε στη σφαίρα της επιστημονικής φαντασίας. Με τον προσδιορισμό γονιδίων που είναι υπεύθυνα για γενετικές ασθένειες και την εύρεση της αλληλουχίας τους δημιουργούνται νέες προοπτικές για τη γονιδιακή θεραπεία πολλών ασθενειών. Είναι βασικό να τονιστεί ότι παρόλο που η γονιδιακή θεραπεία παρουσιάζεται ως πανάκεια στην Ιατρική, η εφαρμογή της, τουλάχιστον στο άμεσο μέλλον, θα είναι περιορισμένη επειδή δεν έχουν ακόμη ξεπεραστεί προβλήματα όπως αυτά που αφορούν τη χρήση των φορέων. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, στις περισσότερες περιπτώσεις ως φορείς χρησιμοποιούνται ιοί οι οποίοι αν και καθίστανται αβλαβείς, έχουν μικρή πιθανότητα να προκαλέσουν παρενέργειες και σε ορισμένες περιπτώσεις καρκίνο. Έτσι λοιπόν η ανάπτυξη πιο κατάλληλων φορέων είναι ο επόμενος στόχος για τη βελτίωση των μεθόδων της γονιδιακής θεραπείας.

Με τις μεθόδους της γονιδιακής θεραπείας δε γίνεται αντικατάσταση του μεταλλαγμένου γονιδίου σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού αλλά ενσωμάτωση του φυσιολογικού αντιγράφου του στο γονιδίωμα συγκεκριμένων σωματικών κυττάρων. Συνεπώς δεν μεταβιβάζεται στους απογόνους.

Η *ex vivo* δεν μπορεί να εφαρμοστεί στα κύτταρα όλων των ιστών, αλλά κατά βάση στα κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος.

Τι είναι η ανάλυση ανθρώπινου γονιδιώματος και ποια η αξία της;



Οπως έχει αναφερθεί, το ανθρώπινο γονιδίωμα αποτελείται από 3×10^9 ζεύγη βάσεων DNA, το οποίο κατανέμεται σε χρωμοσώματα. Η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας βάσεων του DNA πιστεύεται ότι θα μας βοηθήσει να κατανοήσουμε πώς έχει «κατασκευαστεί» και λειτουργεί ο ανθρώπινος οργανισμός. Για το σκοπό αυτό το 1986 ξεκίνησε μία διεθνής συνεργασία με σκοπό τη χαρτογράφηση, δηλαδή τον εντοπισμό της θέσης των γονιδίων στα χρωμοσώματα, και τον προσδιορισμό της αλληλουχίας των βάσεων του DNA στο ανθρώπινο γονιδίωμα. Το πρόγραμμα, που φυσικά απαιτούσε τη συμβολή πολλών ερευνητών και γενναία χρηματοδότηση, ξεκίνησε το 1990 υπό την αιγίδα του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας και του Τμήματος Ατομικής Ενέργειας των Η.Π.Α. Αρχικά υπήρχε η εκτίμηση ότι το πρόγραμμα θα ολοκληρωνόταν το 2005, όμως χάρη στην αυτοματοποίηση των εργαστηριακών μεθόδων και την ανάπτυξη της πληροφορικής ολοκληρώθηκε το 2001.



Η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος θα συμβάλει:

- Στη μελέτη της οργάνωσης και λειτουργίας του ανθρώπινου γονιδιώματος. Μετά την ολοκλήρωση του προγράμματος θα προσδιορίσουμε το σύνολο των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, οι ρυθμιστικές περιοχές των γονιδίων αυτών καθώς και τις περιοχές του γονιδιώματος με άγνωστη λειτουργία. Ο αριθμός των γονιδίων είχε αρχικά εκτιμηθεί το 1990 σε 100.000, ενώ σήμερα εκτιμάται ότι τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες είναι λιγότερα από 40.000
- Στην ανάπτυξη μεθοδολογίας για τη διάγνωση και τη θεραπεία των ασθενειών με τον προσδιορισμό της θέσης και της αλληλουχίας των γονιδίων που έχουν μεταλλαγή και σχετίζονται με διάφορες ασθένειες.
- Στη μελέτη της εξέλιξης του ανθρώπινου γονιδιώματος. Για το σκοπό αυτό βρίσκονται παράλληλα σε εξέλιξη προγράμματα προσδιορισμού της αλληλουχίας άλλων ειδών, τα οποία θα συμβάλουν στην αποκάλυψη των εξελικτικών σχέσεων που υπάρχουν μεταξύ των ειδών. Έτσι βρίσκονται σε εξέλιξη προγράμματα χαρτογράφησης γονιδιωμάτων οργανισμών όπως είναι το πρόβατο, ο σκύλος, η αγελάδα, διάφορα έντομα, ο γεωσκώληκας καθώς και πολλοί μικροοργανισμοί
- Στην μαζική παραγωγή προϊόντων, με τις μεθόδους που χρησιμοποιεί η Βιοτεχνολογία, μετά την απομόνωση των γονιδίων, τα οποία είναι χρήσιμα στη φαρμακοβιομηχανία, στη βιομηχανία, στη γεωργία και την κτηνοτροφία.

ΛΥΣΕΙΣ ΣΧΟΛΙΚΟΥ ΒΙΒΛΙΟΥ



1. Ποια συστατικά χρειάζονται, για να παραχθεί ανασυνδυασμένη ανθρώπινη ινσουλίνη από κύτταρα *E. coli*;

Για να παραχθεί ανασυνδυασμένη ανθρώπινη ινσουλίνη από κύτταρα *E. coli* χρειάζονται: mRNA από κύτταρα ανθρώπινου παγκρέατος, ένζυμα (αντίστροφη μεταγραφή, DNA δεσμάση, ένζυμο για τη μετατροπή της προΐνσουλίνης σε ινσουλίνη), ένας φορέας κλωνοποίησης (πλασμίδιο), κύτταρα *E. coli*, θρεπτικό υλικό και αντιβιοτικά.

2. Σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο παράγεται ινσουλίνη.
- α. σε ποια θέση στο κύτταρο γίνονται: η μεταγραφή, η μετάφραση ;
 - β. στη Γενετική Μηχανική η ινσουλίνη παράγεται από mRNA και όχι από DNA. Γιατί ;

α. η μεταγραφή γίνεται στον πυρήνα και η μετάφραση γίνεται στα ριβοσώματα του κυττάρου

β. Η παραγωγή ινσουλίνης από mRNA και όχι από DNA έχει το πλεονέκτημα της απομόνωσης μόνο των αλληλουχιών του γονιδίου που μεταφράζονται σε αμινοξέα, δηλαδή των εξωνίων .

3. Παρ' ότι ο ποντικός και ο αρουραίος δεν είναι κτηνοτροφικής σημασίας ζώα, καταναλώνονται υπέρογκα ποσά για τη χαρτογράφηση του γονιδιώματός τους. Γιατί πιστεύετε ότι συμβαίνει κάτι τέτοιο;

Επειδή η μελέτη του γονιδιώματός τους θα συμβάλει στην αποκάλυψη των εξελικτικών σχέσεων που υπάρχουν μεταξύ των ειδών. Επίσης, ζώα όπως ο ποντικός χρησιμοποιούνται σε ιατρικά πειράματα, ως μοντέλα, για τη μελέτη του καρκίνου και άλλων ασθενειών, και, κατά δεύτερο λόγο, για την παραγωγή πρωτεϊνών χρήσιμων στον άνθρωπο.

4. Το γονίδιο της κυστικής ίνωσης, που εισήχθη με αδενοϊό, δεν πέρασε σε όλα τα κύτταρα της ασθενούς που μολύνθηκαν από αυτόν. Εάν η ασθενής αποκτήσει απογόνους, τότε αυτοί έχουν μικρή πιθανότητα να πάσχουν από κυστική ίνωση. Δώστε μια πιθανή εξήγηση.

Οι ιοί και επομένως και οι αδενοϊοί δεν προσβάλλουν όλα τα κύτταρα του οργανισμού αλλά ειδικά κύτταρα ενός ιστού.

Η κυστική ίνωση οφείλεται σε μεταλλάξεις ενός γονιδίου, το οποίο παρουσιάζει υπολειπόμενη αυτοσωμική κληρονομικότητα και επηρεάζει πρωτίστως τη λειτουργία των πνευμόνων. Το γονίδιο της κυστικής ίνωσης που εισήχθη με τον αδενοϊό, πέρασε στα επιθηλιακά κύτταρα του αναπνευστικού συστήματος της ασθενούς και όχι στα γεννητικά της κύτταρα, τα οποία έχουν το γονίδιο για τη κυστική ίνωση σε ομόζυγη κατάσταση.

Έστω α το γονίδιο για την κυστική ίνωση και Α το φυσιολογικό αλληλόμορφο του.

Η γονιδιακή θεραπεία γίνεται σε σωματικά κύτταρα. Συνεπώς, δεν επηρεάζεται η πιθανότητα απόκτησης υγιών ή ασθενών απογόνων. Η πιθανότητα αυτή εξαρτάται μόνο από τους γονότυπους των γονέων.

Εάν ο σύζυγος της ασθενούς είναι φυσιολογικός ομόζυγος, όλα τα παιδιά τους θα είναι φορείς ($aa \times AA \Rightarrow Aa$). Εάν ο σύζυγος της ασθενούς είναι φορέας, η πιθανότητα να αποκτήσουν παιδί με κυστική ίνωση είναι 50% ($aa \times Aa \Rightarrow 2/4 Aa, 2/4 aa$). Εάν και ο σύζυγος της ασθενούς πάσχει από κυστική ίνωση, η πιθανότητα να αποκτήσουν παιδί με κυστική ίνωση είναι 100% ($aa \times aa \Rightarrow aa$). Τα άτομα που πάσχουν από κυστική ίνωση εμφανίζονται με μικρή συχνότητα στον πληθυσμό. Άρα η ασθενής θα παντρευτεί, κατά πάσα πιθανότητα, ένα φυσιολογικό άτομο. Συνεπώς όλα τα παιδιά τους θα είναι φορείς ($aa \times AA \Rightarrow Aa$).

5. Αναφέρετε τα πλεονεκτήματα παραγωγής ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής σε σχέση με την εξαγωγή της από πτώματα.

Πριν από την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA, η παραγωγή ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης γινόταν με την εξαγωγή της από εγκεφάλους πτωμάτων, με αποτέλεσμα να είναι διαθέσιμη σε πολύ μικρές ποσότητες και η παραγωγή της να είναι πολύ ακριβή. Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA έδωσε τη δυνατότητα παραγωγής ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης σε σημαντικές ποσότητες, με μικρό κόστος, για ευρεία κατανάλωση.

6. Η ινσουλίνη ήταν η πρώτη πρωτεΐνη που παρήχθη με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής. Για ποιο λόγο νομίζετε ότι παρήχθη η ορμόνη αυτή ;

Επειδή ένας μεγάλος αριθμός ασθενών έχει ανάγκη την ινσουλίνη (πάνω από 60.000.000 άτομα στο κόσμο).



7. Τι είναι τα εμβόλια υπομονάδες



Τα εμβόλια-υπομονάδες στηρίζονται στην παραγωγή μόνο των πρωτεϊνών ενός παθογόνου οργανισμού, που έχουν αντιγονική ιδιότητα και προκαλούν ανοσολογική αντίδραση από τον οργανισμό που προσβάλλει. Γονίδια του παθογόνου οργανισμού που κωδικοποιούν την πρωτεΐνη με την αντιγονική δράση, εισάγονται σε κυτ-ταροκαλλιέργειες και παράγουν την πρωτεΐνη αυτή σε μεγάλες ποσότητες. Στη συνέχεια η πρωτεΐνη καθαρίζεται και χρησιμοποιείται ως εμβόλιο.

ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΕΝΝΟΙΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ Γ ΛΥΚΕΙΟΥ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ

Κεφάλαιο Ένατο
Ενότητα: Εφαρμογές
Βιοτεχνολογίας στη Γεωργία
Κτηνοτροφία

Ποιες είναι οι βασικές τεχνικές της ζωικής και της φυτικής παραγωγής; Ποιες κοινωνικές ανάγκες εξυπηρετούν;



Οι ελεγχόμενες διασταυρώσεις οδηγούν στην τροποποίηση της γενετικής σύστασης των οργανισμών

Ο πληθυσμός του πλανήτη μας αυξάνεται με ταχείς ρυθμούς. Σήμερα ο πληθυσμός είναι περίπου 6 δισεκατομμύρια, και υπολογίζεται ότι το 2050 θα ανέρχεται σε 8.5 δισεκατομμύρια. Για να καλυφθούν επαρκώς οι αυξημένες ανάγκες σε τροφή, είναι απαραίτητη η αύξηση της φυτικής και της ζωικής παραγωγής.

Ένας τρόπος βελτίωσης της φυτικής και ζωικής παραγωγής είναι οι ελεγχόμενες από τον άνθρωπο διασταυρώσεις φυτών και ζώων. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιείται **επιλογή** φυτών και ζώων που έχουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, όπως φυτά με μεγάλο μέγεθος καρπών, με ανθεκτικότητα σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες ή ζώα που παράγουν μεγάλη ποσότητα κρέατος. Οι οργανισμοί αυτοί **διασταυρώνονται** με σκοπό τη δημιουργία απογόνων με επιθυμητά χαρακτηριστικά. Αυτός ο τρόπος βελτίωσης της παραγωγής είναι χρονοβόρος και επίπονος, επειδή απαιτούνται συνεχείς διασταυρώσεις. Επιπλέον οι απόγονοι που προκύπτουν φέρουν συνήθως ορισμένους μόνο από τους επιθυμητούς χαρακτήρες μαζί με άλλες μη επιθυμητές ιδιότητες.

Η δημιουργία διαγονιδιακών οργανισμών ανοίγει νέους δρόμους στην αύξηση της φυτικής και ζωικής παραγωγής

Η Γενετική Μηχανική δίνει τη δυνατότητα προσθήκης νέων γονιδίων απευθείας στον οργανισμό. Καθιστά συνεπώς δυνατή σε σύντομο χρονικό διάστημα τη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων φυτών και ζώων, που έχουν τους επιθυμητούς χαρακτήρες όπως, για παράδειγμα, ανθεκτικότητα σε ασθένειες. Τα φυτά και τα ζώα που έχουν υποστεί γενετική αλλαγή με τη χρήση των τεχνικών Γενετικής Μηχανικής ονομάζονται **διαγονιδιακά η γενετικά τροποποιημένα**. Όπως ήταν αναμενόμενο, η παραγωγή και χρήση τους δημιουργεί διάφορους προβληματισμούς, που αφορούν τις επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου, καθώς και στο περιβάλλον.

Ποια πλεονεκτήματα και ποια μειονεκτήματα παρουσιάζουν οι τεχνικές βελτίωσης των ζωικών και φυτικών ειδών;



Μέθοδος ελεγχόμενων διασταυρώσεων

(-) Χρονοβόρα, απόγονοι – φορείς και άλλων, ίσως μη επιθυμητών χαρακτηριστικών.

(+) Όχι ηθική – συνειδησιακή φραγμοί στην εφαρμογή της.

Μέθοδος διαγονιδιακών ή γενετικά τροποποιημένων οργανισμών

(-) Πιθανά προβλήματα από απελευθέρωση νέων γονιδίων στο περιβάλλον ή την υγεία του ανθρώπου – καταναλωτή προϊόντων


(+) Άμεσα αποτελέσματα

(+) Οδηγεί στην επιλογή και προσθήκη μόνο των επιθυμητών χαρακτηριστικών στους νέους οργανισμούς.

Να συγκρίνετε την κλασική μέθοδο διασταυρώσεων με τη μέθοδο Γενετικής Μηχανικής στην προσπάθεια δημιουργίας οργανισμών με επιθυμητά χαρακτηριστικά.



Είναι φανερό ότι η χρησιμοποίηση διαγονιδιακών φυτών και ζώων για την αύξηση της φυτικής και ζωικής παραγωγής παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι της κλασικής μεθόδου των διασταυρώσεων. Αυτά επιγραμματικά είναι τα παρακάτω:

- Επιλογή και προσθήκη μόνο επιθυμητών ιδιοτήτων με ταυτόχρονη διατήρηση των παλαιών επιθυμητών χαρακτηριστικών.
 - Ταχύτατη παραγωγή βελτιωμένων φυτών και ζώων σε σχέση με παραδοσιακές τεχνικές.
- 

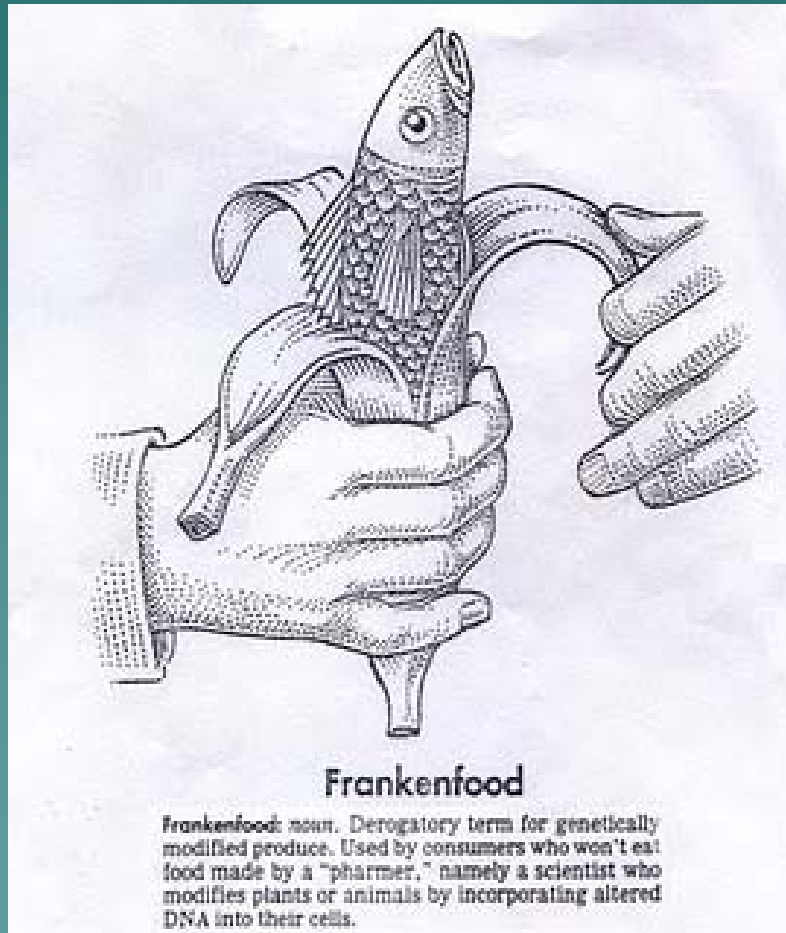
Ποια ιδιότητα του βακτηρίου *Agrobacterium tumefaciens* εκμεταλλευόμαστε στη δημιουργία διαγονιδιακών φυτών;



Tο βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*, το οποίο ζει στο έδαφος, διαθέτει τη φυσική ικανότητα να μολύνει φυτικά κύτταρα μεταφέροντας σ' αυτά ένα πλασμίδιο που ονομάζεται Ti (Ti = tumor inducing factor). Το **πλασμίδιο Ti** ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό των φυτικών κυττάρων, και δημιουργεί εξογκώματα (όγκους) στο σώμα των φυτών. Οι ερευνητές, αφού απομόνωσαν το πλασμίδιο από το βακτήριο κατόρθωσαν να απενεργοποιήσουν τα γονίδια που δημιουργούν τους όγκους τοποθετώντας στο πλασμίδιο το γονίδιο που θα προσδώσει στο φυτό μία επιθυμητή ιδιότητα. Το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο εισάγεται σε φυτικά κύτταρα που αναπτύσσονται σε ειδικές καλλιέργειες στο εργαστήριο. Τα τροποποιημένα αυτά φυτικά κύτταρα τελικά δίνουν ένα νέο φυτικό οργανισμό, που περιέχει και εκφράζει το ξένο γονίδιο. Τα **διαγονιδιακά φυτά** που δημιουργούνται έχουν την ικανότητα να μεταβιβάζουν τις νέες ιδιότητες στους απογόνους τους.



Πως δημιουργούνται τα διαγονιδιακά φυτά; Να αναφέρετε μια μέθοδο παραγωγής, καθώς και παραδείγματα φυτικών οργανισμών που έχουν τροποποιηθεί γενετικά



Tο βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*, το οποίο ζει στο έδαφος, διαθέτει τη φυσική ικανότητα να μολύνει φυτικά κύτταρα μεταφέροντας σ' αυτά ένα πλασμίδιο που ονομάζεται Ti (Ti = tumor inducing factor). Το **πλασμίδιο Ti** ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό των φυτικών κυττάρων, και δημιουργεί εξογκώματα (όγκους) στο σώμα των φυτών. Οι ερευνητές, αφού απομόνωσαν το πλασμίδιο από το βακτήριο κατόρθωσαν να απενεργοποιήσουν τα γονίδια που δημιουργούν τους όγκους τοποθετώντας στο πλασμίδιο το γονίδιο που θα προσδώσει στο φυτό μία επιθυμητή ιδιότητα. Το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο εισάγεται σε φυτικά κύτταρα που αναπτύσσονται σε ειδικές καλλιέργειες στο εργαστήριο. Τα τροποποιημένα αυτά φυτικά κύτταρα τελικά δίνουν ένα νέο φυτικό οργανισμό, που περιέχει και εκφράζει το ξένο γονίδιο. Τα **διαγονιδιακά φυτά** που δημιουργούνται έχουν την ικανότητα να μεταβιβάζουν τις νέες ιδιότητες στους απογόνους τους.

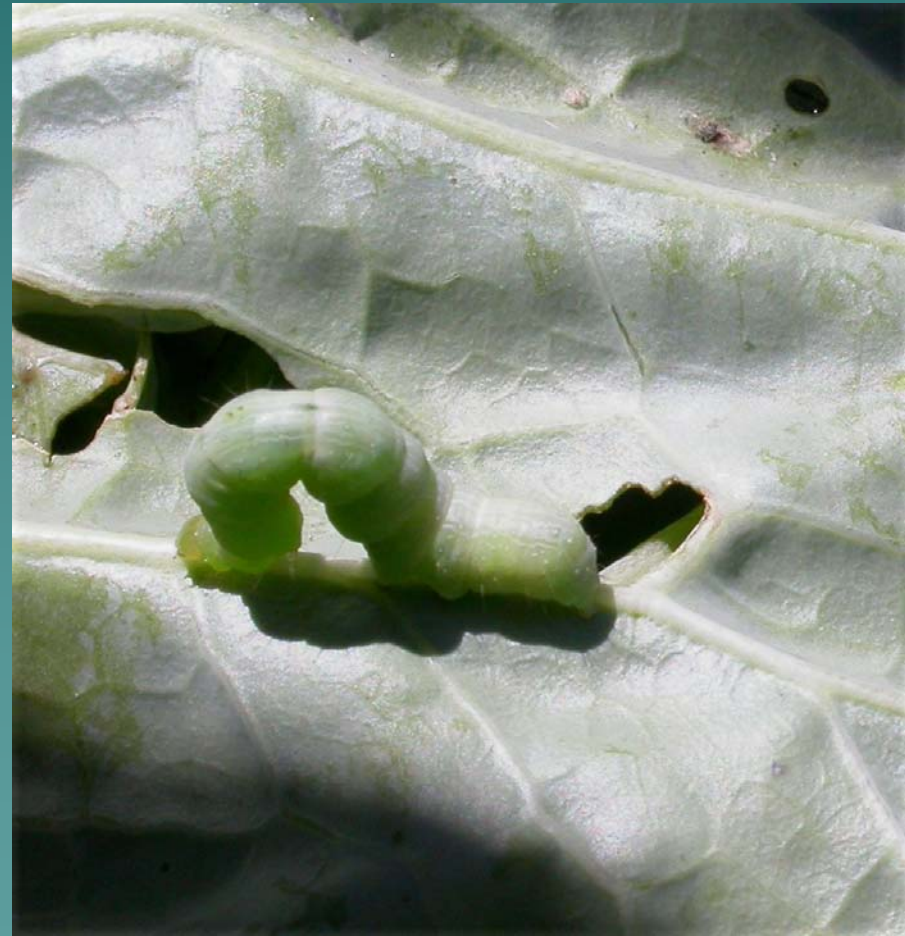
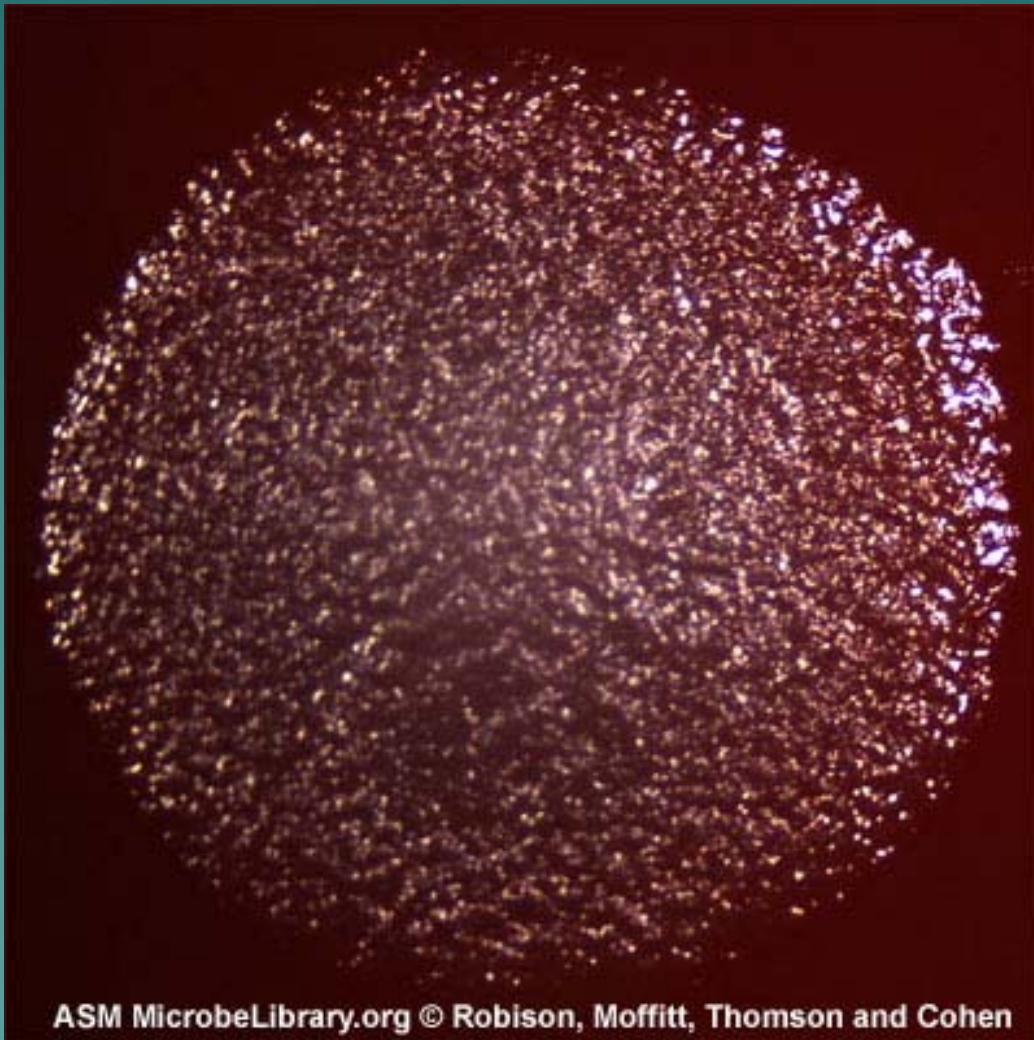
Οι προσπάθειες των ερευνητών επικεντρώνονται στη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων φυτών τα οποία δίνουν τη δυνατότητα στους αγρότες:

- Να προφυλάσσουν αποτελεσματικά τις καλλιέργειες από έντομα και ζιζάνια
- Να παράγουν προϊόντα τα οποία έχουν μεγαλύτερη «διάρκεια ζωής» από το χωράφι έως τον καταναλωτή.

Τα κυριότερα φυτά τα οποία έχουν τροποποιηθεί για τις παραπάνω ιδιότητες είναι η σόγια, το καλαμπόκι (για τροφή ζώων), το βαμβάκι, ο καπνός και η ελαιοκράμβη.



Τι γνωρίζεται για το βακτήριο *Bacillus thuringiensis*;



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 τη 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 T1 του *Agrobacterium tumefaciens*. Τα τροποποιημένα γενετικά 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).

Για ποιο λόγο δημιουργούμε διαγονιδιακά φυτά;



Οι προσπάθειες των ερευνητών επικεντρώνονται στη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων φυτών τα οποία δίνουν τη δυνατότητα στους αγρότες:

- Να προφυλάσσουν αποτελεσματικά τις καλλιέργειες από έντομα και ζιζάνια
- Να παράγουν προϊόντα τα οποία έχουν μεγαλύτερη «διάρκεια ζωής» από το χωράφι έως τον καταναλωτή.

Με ποιον τρόπο βοηθά η Βιοτεχνολογία στην καταπολέμηση παρασίτων και εντόμων;



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 T1 του *Agrobacterium tumefaciens*. Τα τροποποιημένα γενετικά 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).


Ποιες ποικιλίες φυτών ονομάζονται ποικιλίες Bt; Να περιγράψετε τη μέθοδο παραγωγής τους.



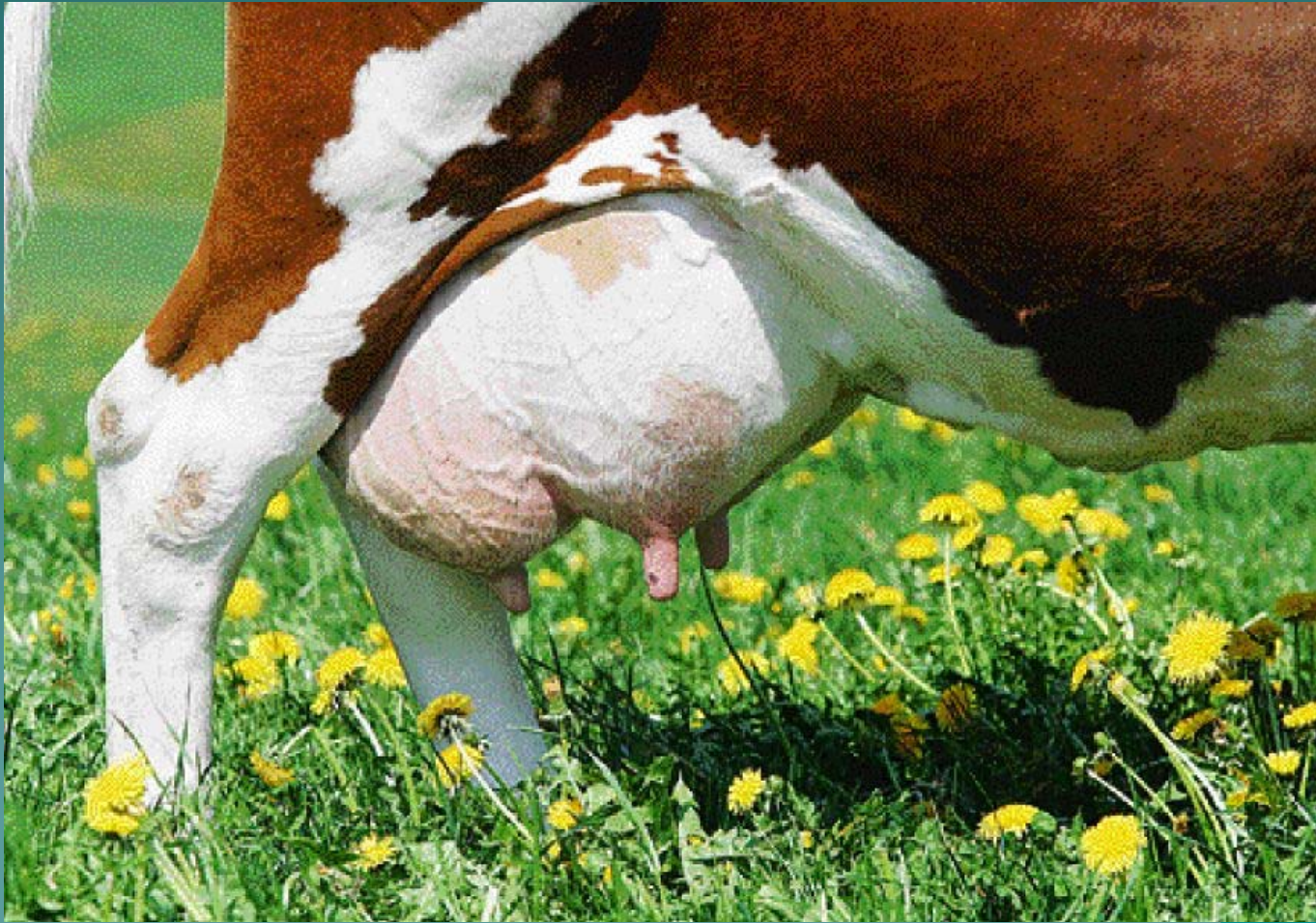
Οι ποικιλίες Bt είναι διαγονιδιακά ή γενετικά τροποποιημένα φυτά στα οποία έχει ενσωματωθεί το γονίδιο ανθεκτικότητας στα έντομα. Το γονίδιο αυτό προέρχεται από το βακτήριο *Bacillus thuringiensis* και είναι υπεύθυνο για την παραγωγή μιας ισχυρής τοξίνης που καταστρέφει πολλά είδη εντόμων και σκωλήκων.

Η παραγωγή των ποικιλιών Bt πραγματοποιείται ως εξής:

- ◆ Απομόνωση με κατάλληλες τεχνικές του γονιδίου που υπεύθυνο για την παραγωγή της τοξίνης από το βακτήριο *Bacillus thuringiensis*
- ◆ Απομόνωση με κατάλληλες τεχνικές του πλασμιδίου T1 από το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*.
- ◆ Απενεργοποίηση των γονιδίων του πλασμιδίου T1 που προκαλούν τη δημιουργία όγκων στα φυτά.
- ◆ Τοποθέτηση στο πλασμίδιο του επιθυμητού γονιδίου που θα προσδώσει τις βελτιωμένες ιδιότητες στο φυτό, δηλαδή δημιουργία ανασυνδυασμένου DNA.

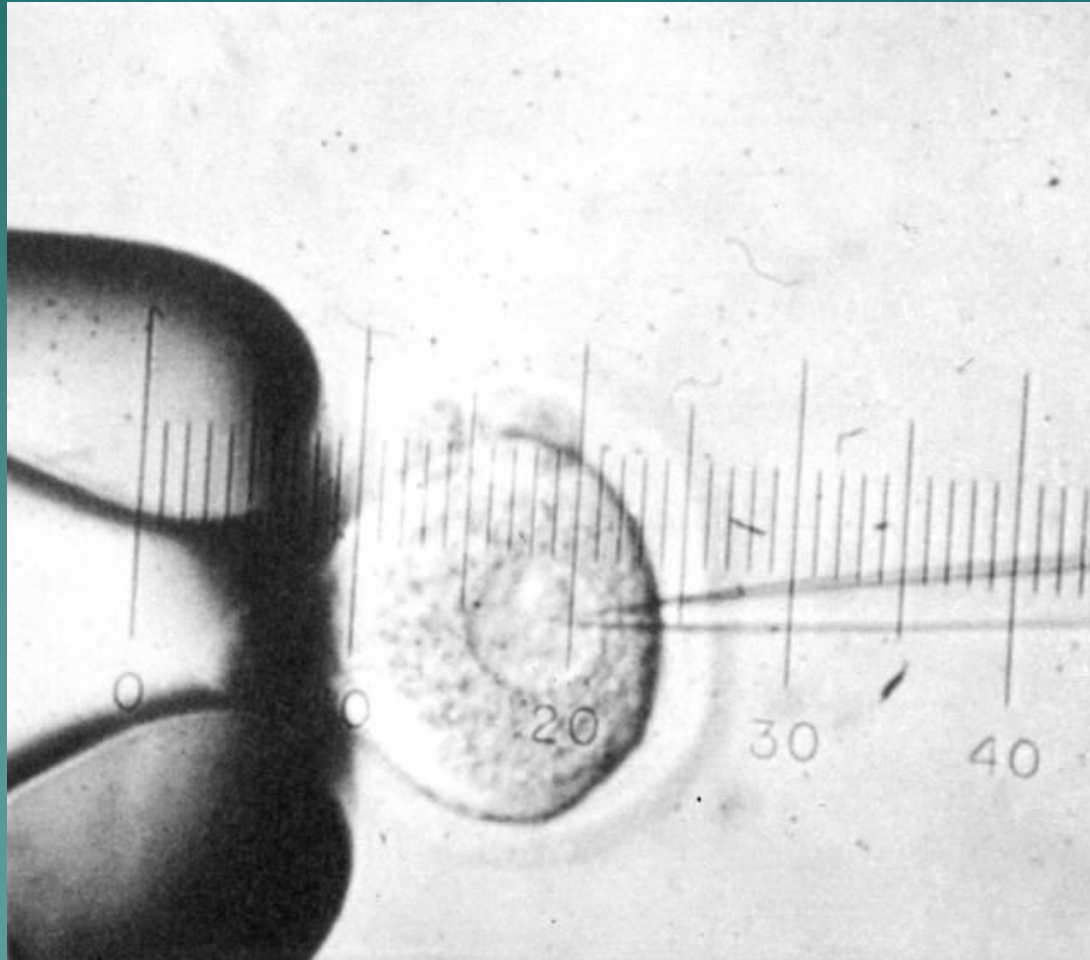
- ◆ Εισαγωγή του πλασμιδίου σε φυτικά κύτταρα. Τα φυτικά κύτταρα περιέχουν τώρα ένα ξένο γονίδιο, το οποίο και εκφράζουν, και έτσι γίνονται διαγονιδιακά
 - ◆ Ανάπτυξη των φυτικών κυττάρων σε ειδικές καλλιέργειες στο εργαστήριο.
 - ◆ Δημιουργία νέου φυτικού οργανισμού.
 - ◆ Τα διαγονιδιακά φυτά έχουν την ικανότητα να μεταβιβάζουν τις νέες ιδιότητες τους στους απογόνους τους.
- 

Ποια ζώα ονομάζονται διαγονιδιακά; Ποια είναι η σημαντικότερη μέθοδος που χρησιμοποιείται για την παραγωγή τους;

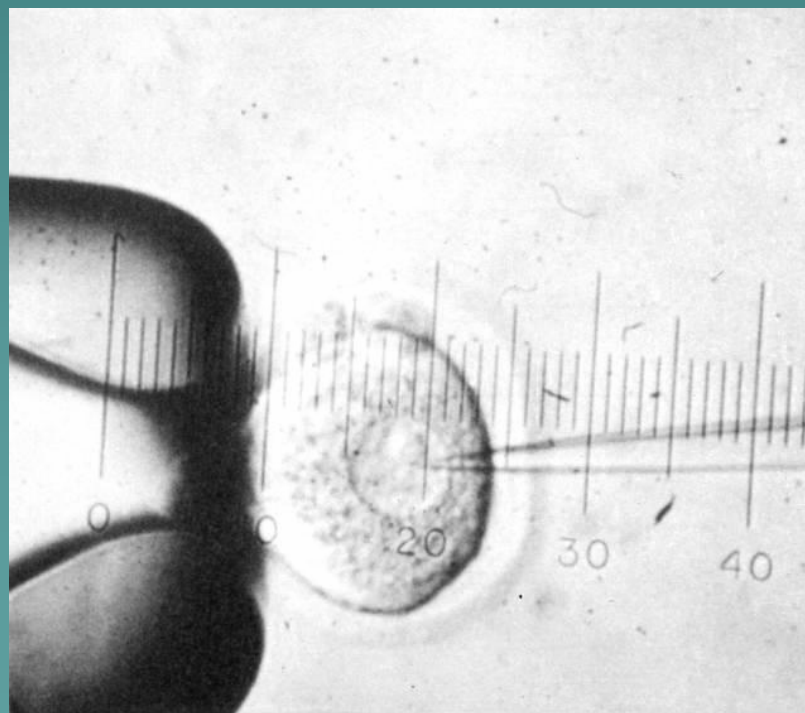


Διαγονιδιακά ονομάζονται τα ζώα εκείνα στα οποία έχει τροποποιηθεί το γενετικό υλικό τους με την προσθήκη γονιδίων, συνήθως από κάποιο άλλο είδος. Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την είσοδο του «ξένου» DNA στα κύτταρα ενός ζώου. Η σημαντικότερη από αυτές είναι η **μικροέγχυση**. Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται ωάρια του ζώου που έχουν γονιμοποιηθεί στο εργαστήριο. Σε αυτά γίνεται εισαγωγή του ξένου DNA με ειδική μικροβελόνα. Το ξένο γενετικό υλικό ενσωματώνεται συνήθως σε κάποιο από τα χρωμοσώματα του πυρήνα του ζυγωτού. Το ζυγωτό τοποθετείται στη συνέχεια στη μήτρα της «θετής» μητέρας, ενός ζώου στο οποίο θα αναπτυχθεί το έμβρυο. Η μικροέγχυση αποτελεί τη μοναδική μέθοδο δημιουργίας διαγονιδιακών αγελάδων, προβάτων, χοίρων και αιγών.

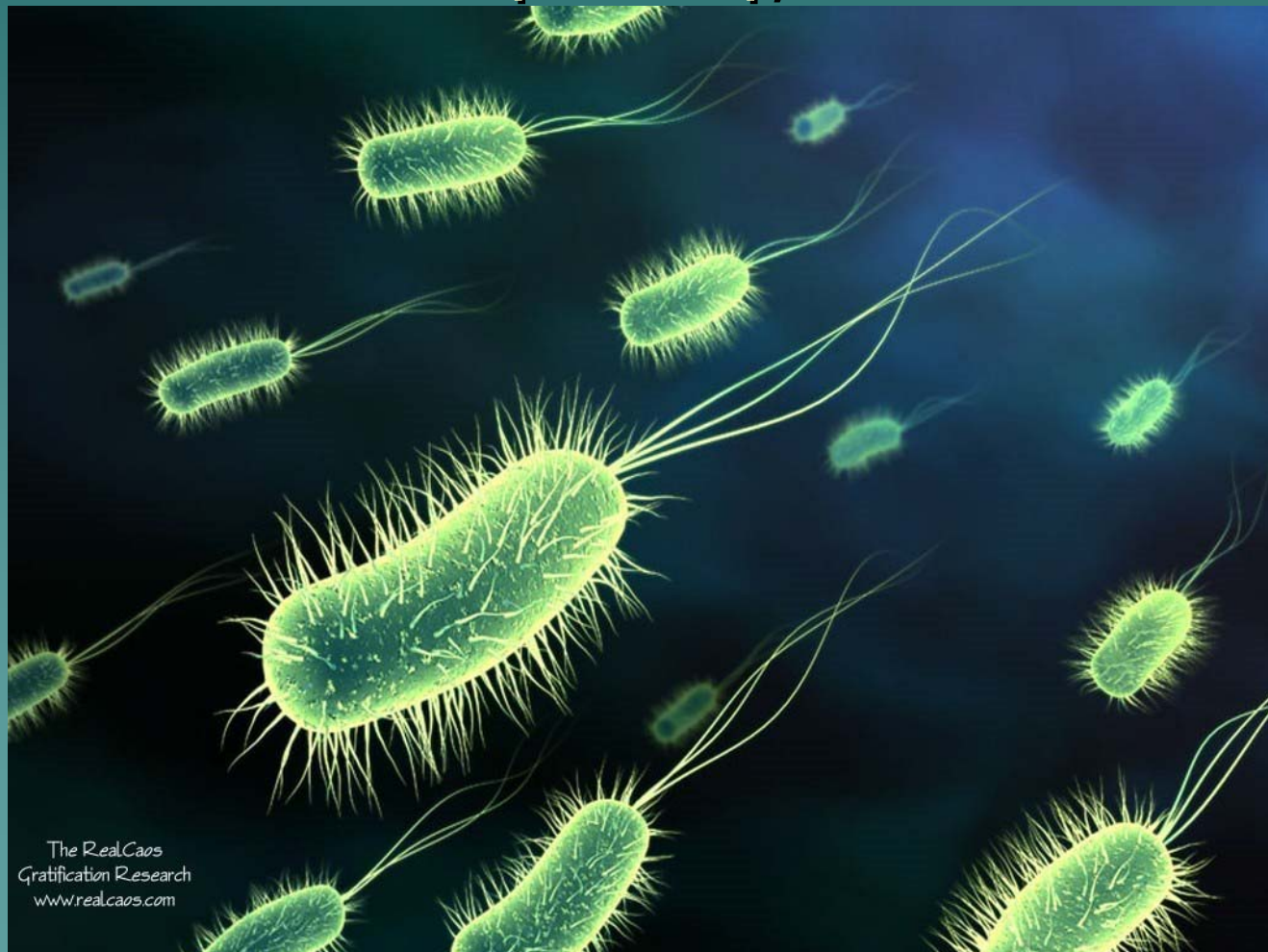
Τι πετυχαίνουμε με την τεχνική της μικροέγχυσης; Ποια είναι συνοπτικά τα στάδιά της;



Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται ωάρια του ζώου που έχουν γονιμοποιηθεί στο εργαστήριο. Σε αυτά γίνεται εισαγωγή του ξένου DNA με ειδική μικροβελόνα. Το ξένο γενετικό υλικό ενσωματώνεται συνήθως σε κάποιο από τα χρωμοσώματα του πυρήνα του ζυγωτού. Το ζυγωτό τοποθετείται στη συνέχεια στη μήτρα της «θετής» μητέρας, ενός ζώου στο οποίο θα αναπτυχθεί το έμβρυο. Η μικροέγχυση αποτελεί τη μοναδική μέθοδο δημιουργίας διαγονιδιακών αγελάδων, προβάτων, χοίρων και αιγών.

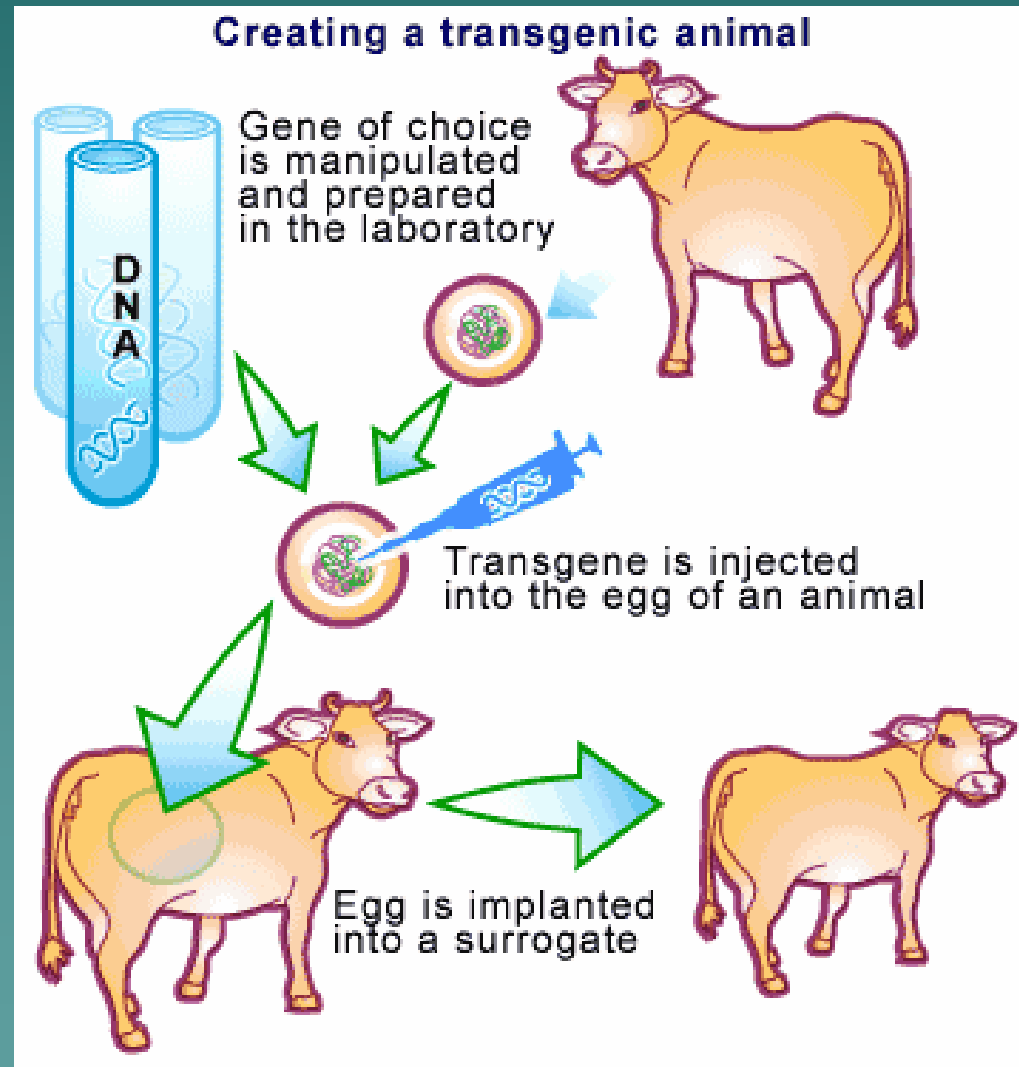


Είναι γνωστό ότι είναι δυνατή η παραγωγή ανθρώπινων πρωτεϊνών από βακτήρια με τεχνικές Γενετικής μηχανικής. Ποιο είναι το βασικό μειονέκτημα της τεχνικής αυτής; Υπάρχει εναλλακτική λύση;



Τα διαγονιδιακά ζώα χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων πρωτεϊνών σε μεγάλη ποσότητα. Όπως έχει ήδη αναφερθεί είναι δυνατή η παραγωγή πρωτεϊνών, όπως η ινσουλίνη και η ανθρώπινη αυξητική ορμόνη, από βακτήρια. Στις περισσότερες όμως περιπτώσεις οι πρωτεΐνες αυτές δεν είναι ακριβώς ίδιες με τις πρωτεΐνες του ανθρώπου, επειδή τα βακτήρια δε διαθέτουν τους μηχανισμούς τροποποίησης των πρωτεϊνών που διαθέτουν οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί. Μια πολλά υποσχόμενη ιδέα είναι η παραγωγή πρωτεϊνών από κύτταρα των μαστικών αδένων των ζώων, για παράδειγμα των προβάτων και των αγελάδων. Με αυτό τον τρόπο θα είναι δυνατή η συλλογή της πρωτεΐνης από το γάλα των ζώων. Αυτός ο τρόπος παραγωγής ονομάζεται **παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα (gene pharming)**.

Τι ονομάζουμε gene pharming και τι πετυχαίνουμε με αυτό; Να αναφέρετε παραδείγματα.



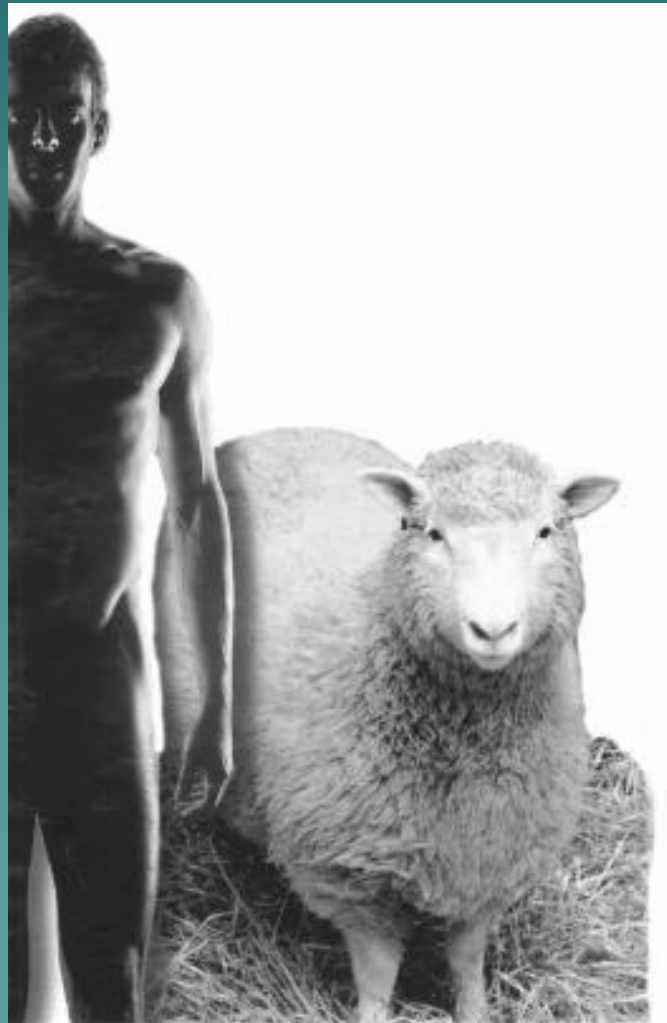
Gene Pharming είναι η παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα. Πιο συγκεκριμένα, η παραγωγή των πρωτεϊνών γίνεται από κύτταρα των μαστικών αδένων διάφορων ζώων (π.χ. αγελάδες, πρόβατα) και η συλλογή τους γίνεται από το γάλα που αυτά παράγουν.

Η πιο επιτυχημένη εφαρμογή αφορά την παραγωγή της ανθρώπινης α_1 -αντιθρυψίνης (ATT=alpha anti-trypsin) από πρόβατα. Η πρωτεΐνη αυτή παράγεται στο ήπαρ του ανθρώπου και η απουσία της, που είναι αποτέλεσμα μετάλλαξης του γονιδίου, έχει ως αποτέλεσμα γενετική ασθένεια, που οδηγεί στο εμφύσημα. Για την παραγωγή της πρωτεΐνης αυτής από τα πρόβατα απομονώθηκε το φυσιολογικό γονίδιο της ATT του ανθρώπου και στη συνέχεια με μικροέγχυση τοποθετήθηκε σε γονιμοποιημένο ωάριο προβάτου. Το πρόβατο που γεννήθηκε από το γονιμοποιημένο αυτό ωάριο ήταν η Tracy, της οποίας οι απόγονοι συνεχίζουν να έχουν το ξένο γονίδιο και να παράγουν την ATT. Οι δυνατότητες παραγωγής τέτοιων ουσιών από διαγονιδιακά ζώα είναι πολύ μεγάλες.

Εκτός από την ΑΤΤ άλλες χρήσιμες πρωτεΐνες που παράγονται με αυτό τον τρόπο είναι ο παράγοντας ΙΧ, μία πρωτεΐνη που συμμετέχει στο μηχανισμό πήξης του αίματος και χορηγείται σε άτομα που πάσχουν από αιμορροφιλία Β.



Ποια είναι συνοπτικά τα πειραματικά βήματα για την παραγωγή μιας φαρμακευτικής ανθρώπινης πρωτεΐνης από ένα διαγονιδιακό ζώο;



Συνοψίζοντας, θα μπορούσαμε να αναφέρουμε ότι τα βήματα που απαιτούνται για την παραγωγή μιας φαρμακευτικής πρωτεΐνης ανθρώπινης προέλευσης από ένα διαγονιδιακό ζώο είναι τα παρακάτω:

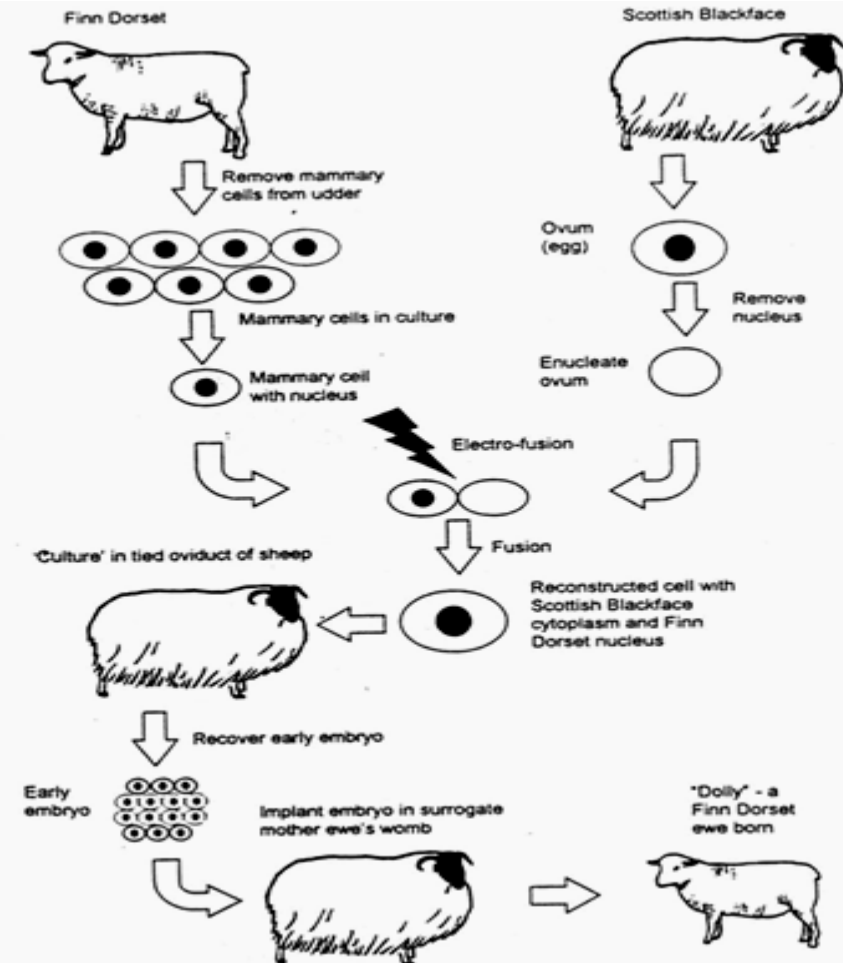
- Απομόνωση του ανθρώπινου γονιδίου που κωδικοποιεί την φαρμακευτική πρωτεΐνη που μας ενδιαφέρει.
- Μικροέγχυση του γονιδίου στον πυρήνα ενός γονιμοποιημένου ωαρίου του ζώου.
- Τοποθέτηση του γενετικά τροποποιημένου ωαρίου στη μήτρα ενήλικου ζώου για κυοφορία.
- Γέννηση του διαγονιδιακού ζώου.
- Διασταυρώσεις με σκοπό να περάσει η τροποποιημένη γενετική πληροφορία στους απογόνους.
- Παραγωγή, απομόνωση και καθαρισμός της φαρμακευτικής πρωτεΐνης.

Τι ονομάζουμε κλώνο σε επίπεδο οργανισμού; Πως δημιουργήθηκε η Dolly;



Tο 1997, όταν οι ερευνητές του Ινστιτούτου Roslin της Σκωτίας ανακοίνωσαν ότι κλωνοποίησαν ένα πρόβατο, το νέο έκανε αμέσως το γύρο του κόσμου με πηχυαίους τίτλους. Το πρόβατο Dolly δημιουργήθηκε, όταν ο πυρήνας ενός κυττάρου του μαστικού αδένα ενός εξάχρονου πρόβατου τοποθετήθηκε στο ωάριο ενός άλλου πρόβατου. Από το ωάριο είχε προηγουμένως αφαιρεθεί ο πυρήνας. Το έμβρυο το οποίο δημιουργήθηκε ύστερα από 3-4 διαιρέσεις εμφυτεύτηκε στη μήτρα θετής μητέρας-προβατίνας, η οποία γέννησε τη Dolly.

Η δημιουργία της Dolly δεν προξένησε έκπληξη στους βιολόγους όσο στον υπόλοιπο κόσμο, επειδή είχε προηγηθεί κλωνοποίηση αμφιβίων από την αρχή της δεκαετίας του 1960. Παρόμοια τεχνική ή χρησιμοποιήθηκε και για την κλωνοποίηση θηλαστικών.

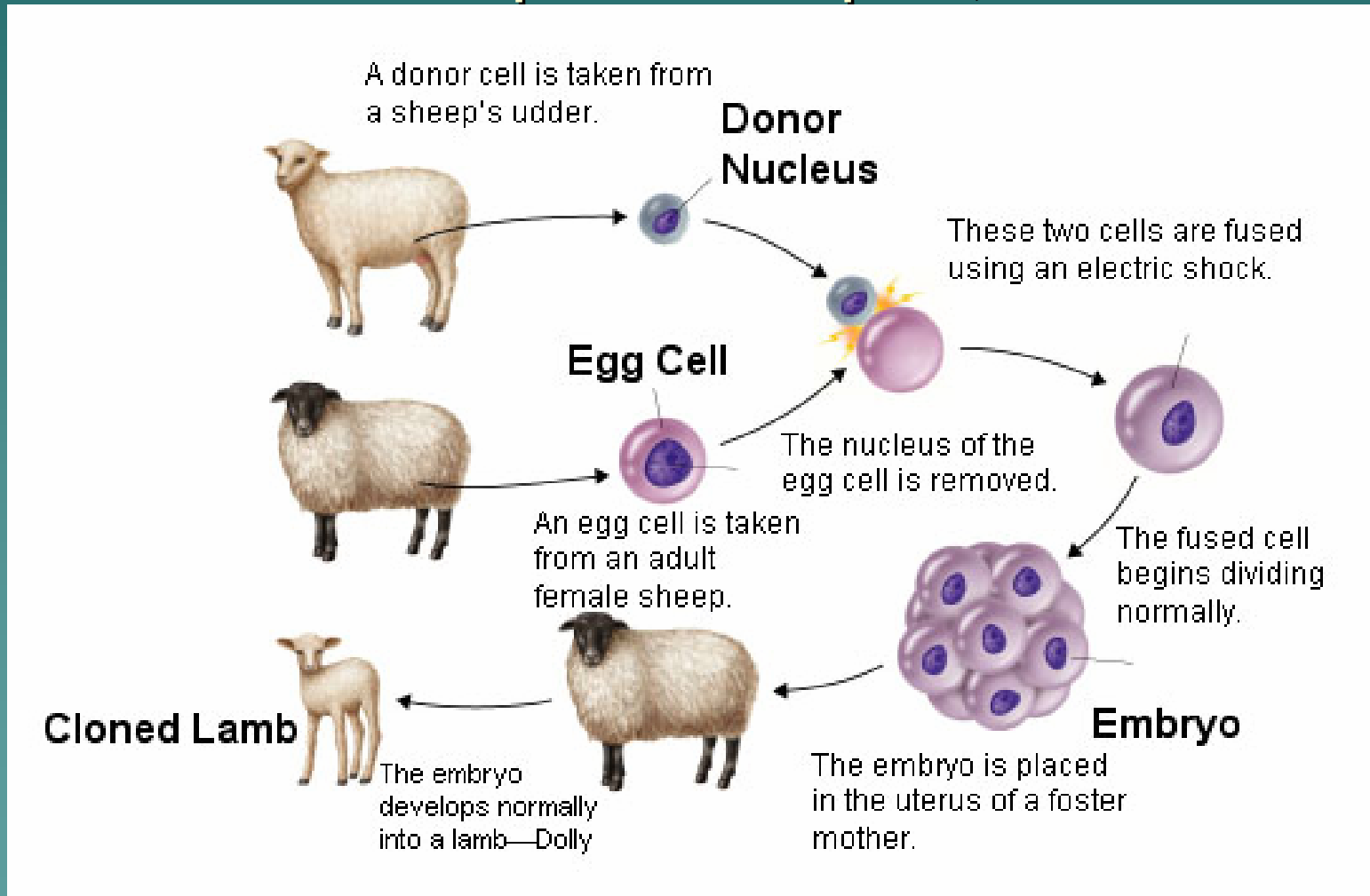


Η Dolly δεν είναι το πρώτο παράδειγμα κλωνοποίησης ανώτερων οργανισμών, καθώς είναι γνωστά πειράματα κλωνοποίησης από τη δεκαετία του 60. Τι διαφορετικό υπήρχε όμως στην περίπτωση της Dolly;



Πειράματα κλωνοποίησης είναι γνωστά από τη δεκαετία του 60 και αφορούν την προσπάθεια κλωνοποίησης αμφιβίων (βατράχων). Σε αυτά τα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν τα κλωνοποιημένα ζώα που δημιουργήθηκαν από πυρήνες κυττάρων εμβρύου. Στην περίπτωση της Dolly όμως, χρησιμοποιήθηκαν πυρήνες από κύτταρα μαστικού αδέννα ενήλικου ατόμου. (εξάχρονο πρόβατο).

Ποιες ιδιαιτερότητες παρουσιάζει η μέθοδος κλωνοποίησης με πυρήνες από κύτταρα ενήλικου ατόμου;



Η κλωνοποίηση κατά την οποία χρησιμοποιούνται από κύτταρα ενήλικου ατόμου παρουσιάζει ιδιαιτερότητες, αλλά και μεγάλο ενδιαφέρον, γιατί στα κύτταρα του ενήλικου ατόμου πολλά από τα γονίδια δεν λειτουργούν, λόγω της διαφοροποίησης που έχουν υποστεί. Αντίθετα, τα κύτταρα που προέρχονται από έμβρυα είναι αδιαφοροποίητα.

Ποιες ενδεικτικές εφαρμογές μπορεί να έχει η κλωνοποίηση;



Η κλωνοποίηση όμως είναι πολύ χρήσιμη στον πολλαπλασιασμό διαγονιδιακών ζώων. Η δημιουργία ενός διαγονιδιακού ζώου που παράγει τον ανθρώπινο παράγοντα πήξης του αίματος, για παράδειγμα, κοστίζει 1-200 εκατομμύρια ευρώ. Με κλωνοποίηση μπορούν εύκολα να παραχθούν πολλά πανομοιότυπα ζώα και έτσι ακόμη μεγαλύτερες ποσότητες του φαρμάκου.

Η κλωνοποίηση μπορεί επίσης να συνεισφέρει στην προστασία από την εξαφάνιση διάφορων ζώων του πλανήτη μας. Στις καταψύξεις πολλών ζωολογικών κήπων υπάρχουν κατεψυγμένα ωάρια και σπερματοζωάρια ή έμβρυα ζώων που κινδυνεύουν να εξαφανιστούν. Πυρήνες από αυτά τα κύτταρα μπορούν να μεταφερθούν σε απύρηνα ωοκύτταρα του είδους που μας ενδιαφέρει και στη συνέχεια να κυοφορηθούν στο ίδιο ή σε συγγενικό είδος ζώου.



ΛΥΣΕΙΣ ΣΧΟΛΙΚΟΥ ΒΙΒΛΙΟΥ



1. Αναφέρετε από μία μέθοδο μεταφοράς γονιδίων σε φυτά και ζώα.

Για τη μεταφορά γονιδίων σε φυτά χρησιμοποιείται το πλασμίδιο T₁ από το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*. Στα ζώα χρησιμοποιείται κυρίως η τεχνική της μικροέγχυσης.

2. Αναφέρατε τις εφαρμογές της βιοτεχνολογίας στη φυτική παραγωγή.



Οι εφαρμογές της βιοτεχνολογίας στη φυτική παραγωγή είναι οι εξής:

- Δημιουργία διαγονιδιακών φυτών, που περιέχουν γονίδια τα οποία τους προσδίδουν νέες ιδιότητες όπως να παράγουν τοξίνες, που καταστρέφουν επιβλα-βή για τα φυτά έντομα και σκώληκες.
 - Παραγωγή νέων ποικιλιών φυτών με ανθεκτικότητα σε μολύνσεις από ιούς, βα-κτήρια και μύκητες
 - Παραγωγή νέων ποικιλιών φυτών, οι οποίες είναι ανθεκτικές σε προσβολές α-πό ζιζανιοκτόνα.
 - Δημιουργία φυτών προσαρμοσμένων σε αντίξοες συνθήκες περιβάλλοντος ό-πως σε συνθήκες παγετού
 - Δημιουργία γενετικά μεταλλαγμένων φυτών με μεγάλο μέγεθος καρπών και με πλουσιότερη συγκομιδή.
- Όλες οι νέες ιδιότητες αποσκοπούν στην αύξηση της φυτικής παραγωγής.

3. Περιγράψτε τη μέθοδο με την οποία χρησιμοποιούνται βακτήρια με στόχο την εξολόθρευση βλαβερών για τις αγροτικές καλλιέργειες εντόμων.

Το βακτήριο *Bacillus thuringiensis* μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την καταπολέμηση των εντόμων, επειδή παράγει μια ισχυρή τοξίνη, η οποία καταστρέφει πολλά είδη εντόμων και σκωλήκων. 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 T1 του *Agrobacterium tumefaciens*. Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά θα είναι ανθεκτικά στα διάφορα έντομα. Το πρώτο φυτό στο οποίο ενσωματώθηκε το γονίδιο της ανθεκτικότητας στα έντομα από τον *Bacillus thuringiensis* ήταν το καλαμπόκι. Τα αποτελέσματα ήταν ικανοποιητικά και στη συνέχεια έγινε δυνατό να εφαρμοστεί η ίδια τεχνική και σε πολλά άλλα είδη φυτών.

4. Με ποιον από τους παρακάτω τρόπους θα μπορούσε να προκύψει ένα μηρυκαστικό, το οποίο να παράγει τον αντιπηκτικό παράγοντα IX στο γάλα του:

α. με τη μέθοδο της επιλογής και των διασταυρώσεων

β. με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής.

Αιτιολογήστε την απάντησή σας

Ένα μηρυκαστικό το οποίο θα παράγει τον αντιπηκτικό παράγοντα IX στο γάλα του θα μπορούσε να προκύψει με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής και όχι με τη μέθοδο της επιλογής και των διασταυρώσεων, Τα μηρυκαστικά δεν παράγουν φυσιολογικά τον αντιπηκτικό παράγοντα IX στο γάλα τους.

Συνοπτικά απομονώνουμε το ανθρώπινο γονίδιο που παράγει τον αντιπηκτικό παράγοντα IX. Με μικροέγχυση το τοποθετούμε στον πυρήνα ενός γονιμοποιημένου ωάριου μηρυκαστικού. Τοποθετούμε το γενετικά τροποποιημένο ωάριο στη μήτρα ενήλικου μηρυκαστικού για κυοφορία και γέννηση του διαγονιδιακού απογόνου.

5. Στα φυτά μπορούν να εισαχθούν γονίδια που τα καθιστούν ανθεκτικά στα ζιζανιοκτόνα ή τους δίνουν τη δυνατότητα να παράγουν ουσίες που εξολοθρεύουν τα έντομα.

Ποια είναι τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα από μια τέτοια διαδικασία ;

Τα πλεονεκτήματα είναι ότι με τη μέθοδο αυτή τα καλλιεργήσιμα φυτά αποκτούν «φυσική» ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα, οπότε με τη χρήση ζιζανιοκτόνων καταστρέφουμε μόνο τα ζιζάνια και έχουμε αύξηση της φυτικής παραγωγής. Με την εισαγωγή, σε καλλιεργήσιμα φυτά, γονιδίων που τους δίνουν τη δυνατότητα να παράγουν ουσίες οι οποίες εξολοθρεύουν τα έντομα αποφεύγουμε τη χρήση εντομοκτόνων. Τα μειονεκτήματα είναι ότι τα γονίδια αυτά μπορεί να μεταφερθούν και στα ζιζάνια ή να εξολοθρευτούν χρήσιμα έντομα με απρόβλεπτες συνέπειες.

6. Για ποιο λόγο χρησιμοποιείται η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA σε οικόσιτα ζώα ;

Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA χρησιμοποιείται στην κτηνοτροφία με στόχο τη δημιουργία ζώων ανθεκτικών σε ασθένειες, με αυξημένη σωματική ανάπτυξη, που παράγουν περισσότερο γάλα. Επιπλέον, με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA μπορεί να έχουμε διαγονιδιακά ζώα, στο γάλα των οποίων μπορούν να εκκρίνονται φαρμακευτικές πρωτεΐνες.