

ΘΕΜΑ 4

4. Κατά την έναρξη της μετάφρασης των mRNA ενός κυττάρου, η μικρή ριβοσωμική υπομονάδα του ριβοσώματος συνδέεται με το mRNA και αμέσως μετά προσδένεται το πρώτο tRNA που μεταφέρει το αμινοξύ μεθειονίνη. Παρακάτω δίνονται δύο δίκλωνες αλληλουχίες DNA. Η αλληλουχία A περιλαμβάνει ένα μικρό συνεχές γονίδιο που κωδικοποιεί ένα τετραπεπτίδιο, ενώ η αλληλουχία B αποτελεί τμήμα του γονιδίου που κωδικοποιεί το rRNA της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος που παίρνει μέρος στη μετάφραση της του mRNA που μεταγράφεται από το τμήμα με αλληλουχία A.

Αλληλουχία A

A C G T C G T G T A C G C A A G C T G T A C T C G A
T G C A G C A C A T G C G T T C G A C A T G A G C T

Αλληλουχία B

Αλυσίδα I 5' T G C A G C A C A T 3'
Αλυσίδα II 3' A C G T C G T G T A 5'

- α. Να εξηγήσετε ποια αλυσίδα της αλληλουχίας A, η πάνω ή η κάτω, είναι η κωδική αλυσίδα του γονιδίου (μονάδες 4).
- β. Να γράψετε την αλληλουχία του mRNA που παράγεται από τη μεταγραφή της αλληλουχίας A (μονάδες 3) και να γράψετε την 5' αμετάφραστη περιοχή του mRNA που έχει μήκος 8 νουκλεοτιδίων (μονάδες 2).
- γ. Να εξηγήσετε ποια από τις αλυσίδες I ή II της αλληλουχίας B αποτελεί τη μεταγραφόμενη αλυσίδα του γονιδίου του rRNA (μονάδες 4).

Μονάδες 13

- α. Κωδική είναι η κάτω αλυσίδα αφού σε αυτήν εντοπίζονται το κωδικόνιο έναρξης 5'-ATG-3', το κωδικόνιο λήξης 5'-TAG-3', καθώς και ακέραιος αριθμός τριπλετών ανάμεσά τους αφού πρόκειται για συνεχές γονίδιο. Άρα, η μεταγραφόμενη (μη κωδική) αλυσίδα είναι η πάνω.
- β. Το mRNA που παράγεται από τη μετάφραση της αλληλουχίας A είναι:
5'UGCAGCACAUGCGUUCGACAUGAGCU3', ενώ η 5' αμετάφραστη περιοχή είναι: 5'UGCAGCAC 3'.
- γ. Επειδή κατά την έναρξη της μετάφρασης, το ριβοσωμικό RNA της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος προσδένεται αντιπαράλληλα με την 5' αμετάφραστη περιοχή του mRNA, σύμφωνα με τον κανόνα της συμπληρωματικότητας των βάσεων, το rRNA θα περιέχει την αλληλουχία: 3' ACGUCGUG 5' (που είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη της αλληλουχίας της 5' αμετάφραστης περιοχής του mRNA). Η αλληλουχία του rRNA προκύπτει από τη μεταγραφή της μη κωδικής αλυσίδας της αλληλουχίας B με την οποία είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη. Αυτή είναι η αλυσίδα I.

6. Το DNA είναι βιολογικό μακρομόριο. Στη φύση, με ελάχιστες εξαιρέσεις, απαντάται ως δίκλωνο μόριο που αποτελείται από δύο συμπληρωματικές πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες, η κά-

θε μία από τις οποίες αποτελείται από δεοξυριβονουκλεοτίδια που ενώνονται μεταξύ τους με φωσφοδιεστερικό δεσμό. Η παρακάτω αλληλουχία αποτελεί τη μία πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα τμήματος μορίου DNA:

...X... A G G C A T T G C C A A G T T C G A A A T C G...Z...

α. Αν ο φωσφοδιεστερικός δεσμός μεταξύ των νουκλεοτιδίων με αζωτούχες βάσεις C– A, που απεικονίζονται σκιασμένα, δημιουργείται μεταξύ του υδροξυλίου (–OH) του 3' άνθρακα της πεντόζης της κυτοσίνης (C) και της φωσφορικής ομάδας (PO_4^{-3}) που είναι συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόζης της αδενίνης (A), να εξηγήσετε ποιο από τα άκρα 3' ή 5' της πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας βρίσκεται στο άκρο X και ποιο στο άκρο Z (μονάδες 6).

β. Να γράψετε τη συμπληρωματική πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα του συγκεκριμένου τμήματος (μονάδες 2) και να εξηγήσετε ποια βάση βρίσκεται στο 5' άκρο της (μονάδες 2).

γ. Να υπολογίσετε τους συνολικούς φωσφοδιεστερικούς δεσμούς του δίκλωνου τμήματος που δημιουργήθηκε και τους δεσμούς υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των δύο αλυσίδων του (μονάδες 3).

Μονάδες 13

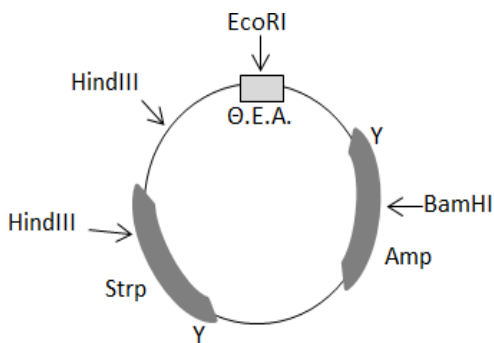
α. Ο 3'– 5' φωσφοδιεστερικός δεσμός δημιουργείται μεταξύ του υδροξυλίου του 3' άνθρακα της πεντόζης του προηγούμενου νουκλεοτιδίου και της φωσφορικής ομάδας που είναι συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόζης του επόμενου νουκλεοτιδίου. Ανεξάρτητα από τον αριθμό των νουκλεοτιδίων από τα οποία αποτελείται η πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα, το πρώτο της νουκλεοτίδιο έχει πάντα μία ελεύθερη φωσφορική ομάδα συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόζης του και το τελευταίο νουκλεοτίδιο της έχει ελεύθερο το υδροξύλιο του 3' άνθρακα της πεντόζης του. Επομένως το X είναι το 5' άκρο του νουκλεοτιδικού τμήματος και το Z το 3' άκρο.

β. Η συμπληρωματική αλυσίδα είναι η: 3'– TCCGTAACGGTTCAAGCTTTAGC – 5', καθώς (σύμφωνα με το μοντέλο της διπλής έλικας) οι δύο αλυσίδες είναι αντιπαράλληλες. Ταυτόχρονα ο προσανατολισμός της πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας είναι 5'→3', επομένως η βάση που βρίσκεται στο 5' άκρο, είναι η βάση κυτοσίνη (C) που σημειώνεται παραπάνω με έντονη γραφή.

γ. Οι συνολικοί φωσφοδιεστερικοί δεσμοί στα γραμμικά μόρια είναι όσα τα νουκλεοτίδια μείον 2. Δηλαδή $24 \times 2 - 2 = 46$. Επειδή μεταξύ των ζευγών A – T δημιουργούνται 2 δεσμοί υδρογόνου και μεταξύ των ζευγών G – C 3 δεσμοί υδρογόνου, οι συνολικοί δεσμοί υδρογόνου που θα αναπτυχθούν είναι $2 \times (A - T) + 3 \times (G - C) = 59$.

13. Η «Green Fluorescent Protein» ή GFP, μια πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη, παράγεται φυσιολογικά από τις μέδουσες του είδους *Aequorea victoria*, οι οποίες αποτελούν ευκαρυωτικούς οργανισμούς, που ζουν, κυρίως, στις δυτικές ακτές της Νοτίου Αμερικής. Μια ερευνητική ομάδα θέλει να τροποποιήσει με τις μεθόδους της γενετικής μηχανικής κάποια βακτήρια ώστε να φθορίζουν με πράσινο χρώμα.

α. Να εξηγήσετε ποιο είδος βιβλιοθήκης (γονιδιωματική ή cDNA) θα πρέπει να κατασκευάσουν οι ερευνητές ώστε να κλωνοποιήσουν και να εκφράσουν την πρωτεΐνη GFP στα βακτήρια (μονάδες 3). Να ονομάσετε τα ένζυμα, εκτός από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες, που θα χρειαστούν κατά τη διαδικασία κατασκευής της βιβλιοθήκης (μονάδες 3).



Θ.Ε.Α. = θέση έναρξης της αντιγραφής

Strp = Γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό στρεπτομυκίνη

Amp= Γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό αμπικιλίνη

Υ= θέση υποκινητή αντίστοιχων γονιδίων

Με βέλη υποδεικνύονται οι θέσεις που αναγνωρίζουν οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες EcoRI, BamHI και HindIII.

β. Οι ερευνητές έχουν στη διάθεσή τους το παραπάνω πλασμίδιο που θα χρησιμοποιήσουν ως φορέα κλωνοποίησης. Να εξηγήσετε ποια περιοριστική ενδονουκλεάση θα επιλέξουν για να κατασκευάσουν μόρια ανασυνδυασμένου DNA (μονάδες 6).

Μονάδες 12

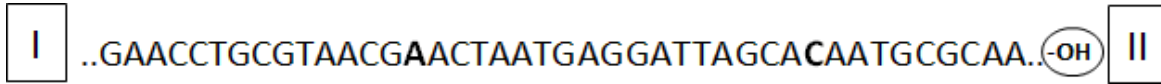
α. Οι ερευνητές θα πρέπει να κατασκευάσουν cDNA βιβλιοθήκη για να κλωνοποιήσουν και να εκφράσουν την πρωτεΐνη GFP στα βακτήρια. Η πρωτεΐνη GFP εκφράζεται φυσιολογικά σε ευκαρυωτικό οργανισμό και συνεπώς, το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη αυτή είναι πιθανότατα ασυνεχές (ή διακεκομμένο), δηλαδή περιέχει εσώνια. Έτσι, το mRNA που παράγεται κατά τη μεταγραφή του γονιδίου αυτού δεν είναι έτοιμο να μεταφραστεί αμέσως, αλλά πρέπει να υποστεί ωρίμανση, έναν μηχανισμό που δεν διαθέτουν τα βακτήρια ως προκαρυωτικοί οργανισμοί. Εάν οι ερευνητές εισήγαγαν το γονίδιο της GFP στα βακτήρια κατά τη διαδικασία κατασκευής γονιδιωματικής βιβλιοθήκης, τα βακτήρια δεν θα παρήγαγαν σωστά τη πρωτεΐνη (δεν θα ήταν λειτουργική) επειδή δεν διαθέτουν το μηχανισμό ωρίμανσης του mRNA. Επίσης, μπορεί να μεταφερόταν στα βακτήρια τμήμα του γονιδίου και όχι ολόκληρο. Συνεπώς, τα βακτήρια δεν θα φθόριζαν με πράσινο χρώμα. Για να ξεπεραστεί αυτό το εμπόδιο, οι ερευνητές μπορούν να κατασκευάσουν cDNA βιβλιοθήκη, στην οποία το προς κλωνοποίηση γονίδιο της GFP θα φέρει μόνο τα εσώνια, εφόσον βασίζεται στην απομόνωση ώριμου mRNA από τα κύτταρα της μέδουσας.

Τα ένζυμα που θα χρειαστούν είναι η αντίστροφη μεταγραφάση, η DNA πολυμεράση και η DNA δεσμάση.

β. Η περιοριστική ενδονουκλεάση που πρέπει να χρησιμοποιήσουν είναι η BamHI. Η BamHI κόβει μια φορά το πλασμίδιο εσωτερικά του γονιδίου ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό αμπικιλίνη, ενώ παραμένει άθικτο το άλλο γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό στρεπτομυκίνη, κάτι που θα βοηθήσει τους ερευνητές κατά τη διαδικασία επιλογής των βακτηριακών κλώνων. Απορρίπτεται η HindIII, επειδή κόβει το πλασμίδιο σε δύο σημεία και η EcoRI γιατί κόβει στη θέση έναρξης της αντιγραφής, άρα θα χαθεί η δυνατότητα αντιγραφής του πλασμιδίου στα βακτήρια, και συνεπώς, η κλωνοποίηση του γονιδίου.

14. Η αντιγραφή του DNA είναι μια πολύπλοκη διαδικασία στην οποία εμπλέκονται πολλά ένζυμα με εξειδικευμένη λειτουργία. Παρακάτω δίνεται η αλληλουχία της μιας αλυσίδας ενός τμήματος DNA, η οποία αντιγράφεται ασυνεχώς και εντοπίζεται μέσα σε μια διχάλα αντιγραφής. Στο τμήμα αυτό σχηματίζονται δύο πρωταρχικά τμήματα, που έχουν μήκος πέντε νουκλεοτιδίων το καθένα και ξεκινούν από τα νουκλεοτίδια που επισημαίνονται με έντονα γράμματα

στην παρακάτω αλληλουχία, δηλαδή την αδενίνη (A) και τη κυτοσίνη (C), αντίστοιχα.



α. Να γράψετε τη συμπληρωματική αλυσίδα DNA που θα σχηματιστεί μετά την ολοκλήρωση της αντιγραφής της παραπάνω αλυσίδας και την αντικατάσταση των πρωταρχικών τμημάτων (μονάδες 3).

β. Να εξηγήσετε σε ποια θέση, στην I ή στη II, βρίσκεται η θέση έναρξης της αντιγραφής (μονάδες 4).

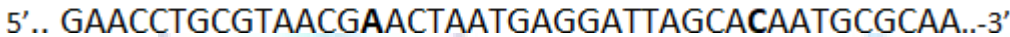
γ. Να γράψετε τα πρωταρχικά τμήματα (με τις κατευθύνσεις τους) που θα σχηματιστούν (μονάδες 4) και να ονομάσετε το ένζυμο που εμπλέκεται στο σχηματισμό τους (μονάδες 2).

Μονάδες 13

α. Σε μια πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα, πάντα το τελευταίο της νουκλεοτίδιο έχει ελεύθερο το υδροξύλιο του 3' άνθρακα της πεντόζης του. Άρα, η κατεύθυνση της μητρικής αλυσίδας είναι I-5' → 3' -II. Η αλυσίδα DNA που θα σχηματιστεί μετά την ολοκλήρωση της αντιγραφής θα είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη της αλυσίδας που αντιγράφεται με ασυνεχή τρόπο και θα έχει την εξής αλληλουχία:

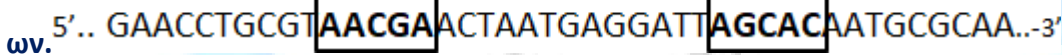


β. Η αντιγραφή γίνεται με προσανατολισμό 5' → 3'. Τα κομμάτια της ασυνεχούς αλυσίδας θα έχουν τον παρακάτω προσανατολισμό:



Το 1ο πρωταρχικό τμήμα είναι αυτό που βρίσκεται πλησιέστερα στη θέση έναρξης της αντιγραφής, άρα η θέση έναρξης της αντιγραφής είναι η I.

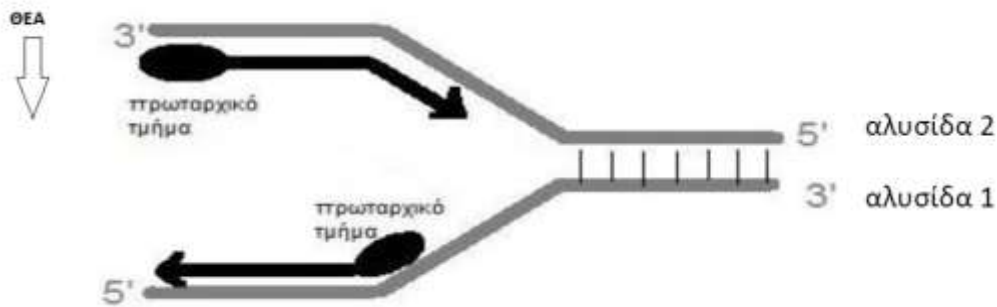
γ. Στη συγκεκριμένη αλυσίδα, τα πρωταρχικά τμήματα ξεκινούν να σχηματίζονται στις θέσεις που δόθηκαν με έντονα γράμματα από την εκφώνηση και θα έχουν μήκος πέντε νουκλεοτιδίων.



Επειδή είναι συμπληρωματικά και αντιπαράλληλα ως προς τη μητρική αλυσίδα του DNA, και αποτελούνται από ριβονουκλεοτίδια, θα έχουν τις εξής αλληλουχίες βάσεων: 5' -UCGUU- 3' και 5' -GUGCU- 3'.

Το ένζυμο που συνθέτει τα πρωταρχικά τμήματα κατά τη διαδικασία της αντιγραφής είναι το πριμόσωμα.

28. Στο παρακάτω σχήμα απεικονίζεται μια διχάλα αντιγραφής ενός μορίου DNA. Οι DNA πολυμεράσες επιμηκύνουν τα πρωταρχικά τμήματα με προσανατολισμό 5' 3', τοποθετώντας συμπληρωματικά δεοξυριβονουκλεοτίδια απέναντι από τις μητρικές αλυσίδες του DNA.



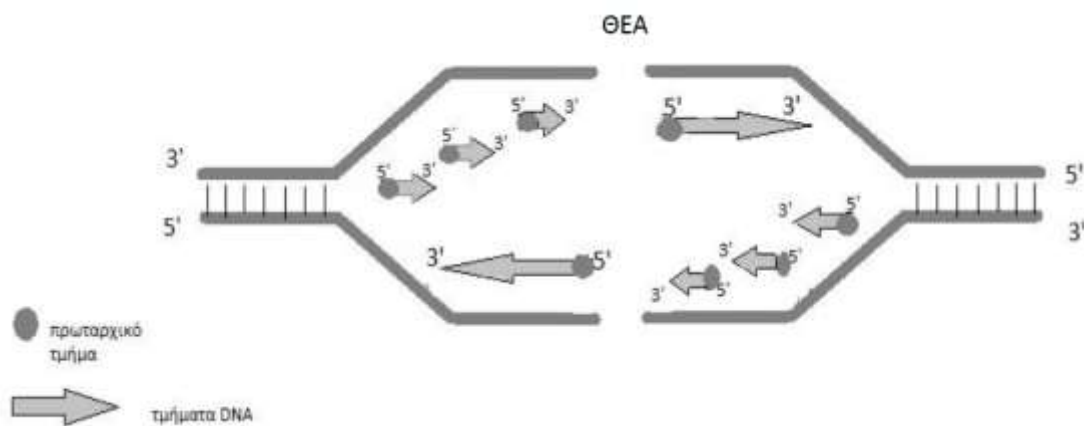
α. Να εξηγήσετε ποια από τις δύο μητρικές αλυσίδες (αλυσίδα 1 ή αλυσίδα 2) θα συνεχίσει να αντιγράφεται με συνεχή τρόπο (μονάδες 6).

β. Να μεταφέρετε στην κόλλα σας την παραπάνω διχάλα αντιγραφής και να τη συμπληρώσετε αναπαριστώντας ολόκληρη τη θηλιά, τοποθετώντας συνολικά 8 πρωταρχικά τμήματα (μονάδες 5). Να σημειώσετε τους προσανατολισμούς των συνεχών και ασυνεχών αλυσίδων DNA (μονάδες 2).

Μονάδες 13

α. Η θυγατρική αλυσίδα που συντίθεται με συνεχή τρόπο έχει ως καλούπι την μητρική αλυσίδα 2. Το δίκλωνο μόριο DNA ξετυλίγεται με την DNA ελικάση, η οποία διασπά τους δεσμούς υδρογόνου, προς τα δεξιά και συνεπώς η DNA πολυμεράση μπορεί να τοποθετεί νουκλεοτίδια στο ελεύθερο 3' OH που συνεχώς υπάρχει στο τελευταίο τοποθετημένο νουκλεοτίδιο της νεοσυντιθέμενης αλυσίδας. Η δεύτερη νεοσυντιθέμενη αλυσίδα, συντίθεται ασυνεχώς, δηλαδή θα πρέπει να τοποθετούνται νέα πρωταρχικά τμήματα όσο απομακρυνόμαστε από τη ΘΕΑ, αφού πρέπει να τηρηθεί ο προσανατολισμός σύνθεσης 5' - 3' με καλούπι τη μητρική αλυσίδα 1.

β.



31. Αν θέλουμε να κλωνοποιήσουμε μόνο τα γονίδια που εκφράζονται σε συγκεκριμένα κύτταρα, τότε κατασκευάζουμε τις cDNA βιβλιοθήκες. Για την κατασκευή μιας cDNA βιβλιοθήκης απομονώθηκε ένα μόριο από τα παρακάτω τρία στην εικόνα 1 και στη συνέχεια δημιουργήθηκαν με τη βοήθεια ενζύμων και κατάλληλων συνθηκών τα άλλα δύο:

Μόριο 1

5' ACCA ATG GAT CCG GGA TCA TGA AACCA 3'

3' TGGT TAC CTA GGC CCT AGT ACT TTGGT 5'

Μόριο 2

5' ACCA AUG GAU CCG GGA UCA UGA AACCA 3'

3' TGGT TAC CTA GGC CCT AGT ACT TTGGT 5'

Μόριο 3

5' ACCA AUG GAU CCG GGA UCA UGA AACCA 3'

εικόνα 1

α. Να εξηγήσετε ποιο μόριο από τα τρία που απεικονίζονται είναι εκείνο που απομονώθηκε (μονάδες 2) και στη συνέχεια να εξηγήσετε τη διαδικασία και να ονομάσετε τα ένζυμα που χρησιμοποιήθηκαν για τον σχηματισμό των άλλων δύο (μονάδες 4).

β. Να εξηγήσετε γιατί τα μόρια που απομονώνονται για την κατασκευή μιας cDNA βιβλιοθήκης δεν περιέχουν εσώνια (μονάδες 6).

Μονάδες 12

Αρχικά απομονώθηκε το μόριο 3 καθώς αποτελεί πιθανώς ένα mRNA (εντοπίζεται κωδικόνιο έναρξης, κωδικόνιο λήξης με κατάλληλο προσανατολισμό, βήμα τριπλέτας και δεν υπάρχουν ενδιάμεσες αλληλουχίες εσωνίων).

Το μόριο 2 αποτελεί υβρίδιο που περιλαμβάνει τη cDNA αλυσίδα που δημιουργήθηκε κατά την αντίστροφη μεταγραφή με το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφή με καλούπι το μόριο 3 που αρχικά απομονώθηκε και το ίδιο το mRNA.

Το μόριο 1 είναι το δίκλωνο cDNA το οποίο δημιουργήθηκε στη συνέχεια με την DNA πολυμεράση με τη διαδικασία της αντιγραφής (αφού προηγήθηκε η αποδιάταξη του μορίου mRNA-cDNA, μόριο 2).

β. Τα μόρια αυτά δεν περιέχουν εσώνια γιατί για την κατασκευή μιας cDNA βιβλιοθήκης απομονώνονται αρχικά ώριμα mRNA μόρια από κάποιο συγκεκριμένο ιστό ώστε να δημιουργηθούν cDNA χωρίς εσώνια, που στη συνέχεια μπορούν να εκφραστούν σε προκαρυωτικά κύτταρα (καθώς τα προκαρυωτικά κύτταρα δεν διαθέτουν τους εκτεταμένους μηχανισμούς ωρίμανσης των mRNA που διαθέτουν τα ευκαρυωτικά). Με αυτό τον τρόπο δίνουν τη δυνατότητα σύνθεσης της πρωτεΐνης που κωδικοποιείται από ένα ευκαρυωτικό γονίδιο στο κύτταρο-ξενιστή.

32. Το οπερόνιο της τρυπτοφάνης (αμινοξύ), όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα, είναι ένα οπερόνιο με αντίστοιχη δομή με τη δομή του οπερονίου της λακτόζης, όμως έχει ως στόχο τη ρύθμιση της σύνθεσης της τρυπτοφάνης, όταν το συγκεκριμένο αμινοξύ απουσιάζει από το θρεπτικό υλικό των βακτηρίων.



α. Να γράψετε τον ορισμό του οπερονίου (μονάδες 3) και να περιγράψετε τα τμήματα από τα οποία αποτελείται το οπερόνιο της λακτόζης (μονάδες 3).

β. Στο οπερόνιο της τρυπτοφάνης η ίδια η τρυπτοφάνη, όταν υπάρχει στο θρεπτικό υλικό του βακτηρίου, συνδέεται με μία ρυθμιστική πρωτεΐνη και της επιτρέπει να συνδεθεί στο χειριστή για να καταστείλει το οπερόνιο. Να συγκρίνετε αυτό το μηχανισμό καταστολής με εκείνο του οπερονίου της λακτόζης (μονάδες 7).

Μονάδες 13

α. 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 γονιδίων που υπόκεινται σε κοινό έλεγχο της έκφρασής τους. Σε αυτά 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

β. Στο οπερόνιο της λακτόζης υπάρχει 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.

Αντίθετα, στο οπερόνιο της τρυπτοφάνης, όταν στο θρεπτικό υλικό υπάρχει τρυπτοφάνη, δεν χρειάζεται να παράγεται αυτό το αμινοξύ. Συνεπώς το ίδιο αυτό αμινοξύ συνδέεται με την αντίστοιχη ρυθμιστική πρωτεΐνη καταστολέα και της επιτρέπει τη σύνδεση στο χειριστή. Με αυτό τον τρόπο το οπερόνιο είναι σε καταστολή και δεν συντίθεται τρυπτοφάνη.

34. Το DNA είναι ένα πολυμερές δεοξυριβονουκλεοτιδίων, που ενώνονται μεταξύ τους με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς και απαντά συνήθως ως δίκλωνο μόριο. Οι δεσμοί υδρογόνου, που αναπτύσσονται μεταξύ των συμπληρωματικών βάσεων των δύο κλώνων του DNA, σταθεροποιούν τη δευτεροταγή δομή του μορίου.

α. Με δεδομένο ότι σε ένα πλασμιδιακό μόριο DNA υπάρχουν 10.000 φωσφοδιεστερικοί δεσμοί και 13.000 δεσμοί υδρογόνου, να υπολογίσετε το πλήθος των νουκλεοτιδίων που έχουν σαν βάση την αδενίνη (A) και την γουανίνη (G), αιτιολογώντας την απάντησή σας (μονάδες 6).

β. Αν ξέρουμε πως η αλληλουχία βάσεων μιας αλυσίδας του μορίου είναι

--AAACCCTACAATCCCCGCAACGTAGTATTTATCTTATTT-- PO₄⁻³

να προσδιορίσετε και να αιτιολογήσετε τον προσανατολισμό της συγκεκριμένης αλυσίδας και να γράψετε την αλληλουχία του συμπληρωματικού κλώνου της (μονάδες 4). Αν η αλληλουχία που δίνεται αποτελεί τμήμα της μη κωδικής αλληλουχίας ενός συνεχούς γονιδίου, που κωδικοποιεί ένα μικρό πεπτίδιο, να γράψετε την αλληλουχία του μορίου mRNA που αναμένεται να προκύψει από την μεταγραφή του παραπάνω τμήματος δικαιολογώντας την απάντησή σας

α. Στη δευτεροταγή δομή του DNA, οι συμπληρωματικές αζωτούχες βάσεις συνδέονται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου στο εσωτερικό του μορίου με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας. Η αδενίνη συνδέεται μόνο με θυμίνη με δύο δεσμούς υδρογόνου, ενώ η κυτοσίνη μόνο με γουανίνη με 3 δεσμούς υδρογόνου. Έτσι, αν X ο αριθμός των νουκλεοτιδίων με βάση την αδενίνη, τότε θα είναι X και ο αριθμός των νουκλεοτιδίων με βάση τη θυμίνη και αν Y ο αριθμός των νουκλεοτιδίων με βάση τη γουανίνη, θα είναι Y και ο αριθμός των νουκλεοτιδίων με βάση την κυτοσίνη, λόγω συμπληρωματικότητας. Δεδομένου ότι τα πλασμίδια είναι κυκλικά μόρια DNA, οπότε και ο αριθμός των νουκλεοτιδίων θα είναι ίσος με τον αριθμό των φωσφοδιεστερικών δεσμών, δηλαδή θα πρέπει να ισχύει $2X+2Y=10.000$ και ο αριθμός των δεσμών υδρογόνου θα είναι $2X + 3Y= 13.000$. Λύνοντας το σύστημα των δύο παραπάνω εξισώσεων προκύπτει ότι $X= 2.000$ και $Y=3.000$. Άρα το πλασμίδιο θα διαθέτει 2.000 νουκλεοτίδια με βάση την αδενίνη, 2.000 νουκλεοτίδια με βάση την θυμίνη, 3.000 νουκλεοτίδια με βάση την κυτοσίνη και 3.000 νουκλεοτίδια με βάση την γουανίνη.

β. Από την παρουσία ελεύθερης φωσφορικής ομάδας στο ένα άκρο διαπιστώνουμε ότι θα αποτελεί το 5' ελεύθερο άκρο του, ενώ το άλλο άκρο θα είναι αντίστοιχα το 3' ελεύθερο άκρο του κλώνου DNA.

Οπότε η αλληλουχία μας έχει προσανατολισμό:

3'-- AAACCCTACAATCCCCGCAACGTAGTATTTATCTTATTT--5'.

Σύμφωνα με τον κανόνα της συμπληρωματικότητας των βάσεων, η συμπληρωματική αλυσίδα DNA του παραπάνω μορίου θα είναι

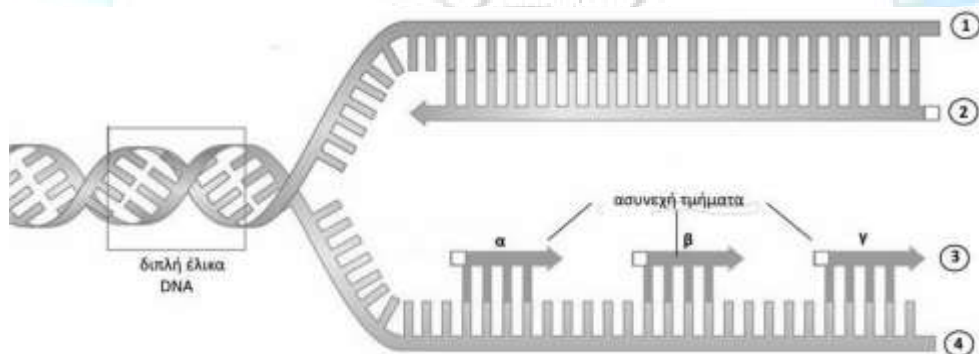
5'--TTTGGG-ATG-TTA-GGG-GCG-TTG-CAT-CAT-AAA-TAG-AATAAA--3'.

Εφόσον η δοθείσα αλυσίδα DNA είναι η μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου, θα προκύψει ένα μόριο mRNA με αντιπαράλληλο προσανατολισμό και συμπληρωματικά ριβονουκλεοτίδια ως προς αυτά της αλυσίδας DNA, διότι η RNA πολυμεράση, τοποθετεί συμπληρωματικά ριβονουκλεοτίδια προς τη μη κωδική (μεταγραφόμενη) αλυσίδα με κατεύθυνση 5'-3'. Άρα η αλληλουχία του μορίου mRNA, θα είναι:

5'-- UUUGGG-AUG-UUA-GGG-GCG-UUG-CAU-CAU-AAA-UAG-AAUAAA--3'.

35. Η αντιγραφή του DNA, όπως προτάθηκε από τους Watson και Crick το 1953, και αποδείχτηκε πειραματικά το 1958, γίνεται με τον ημισυντηρητικό μηχανισμό. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της αντιγραφής σε μία διχάλα αντιγραφής, η σύνθεση του DNA είναι συνεχής στη μια αλυσίδα και ασυνεχής στην άλλη, όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα.

α. Να εξηγήσετε γιατί σε κάθε θηλιά αντιγραφής η μία αλυσίδα αντιγράφεται τόσο με συνεχή όσο και με ασυνεχή τρόπο (μονάδες 6).



β. Να αντιστοιχίσετε, αιτιολογώντας την απάντησή σας, στις θέσεις 1, 2, 3 και 4 της παραπάνω

εικόνας τα 5' και 3' άκρα των πολυνουκλεοτιδικών αλυσίδων (μονάδες 4) και να εξηγήσετε ποιο από τα ασυνεχή τμήματα α, β ή γ συντέθηκε πρώτο (μονάδες 2).

Μονάδες 12

α. Οι DNA πολυμεράσες λειτουργούν μόνο προς καθορισμένη κατεύθυνση και τοποθετούν τα νουκλεοτίδια στο ελεύθερο 3' άκρο της δεοξυριβόζης του τελευταίου νουκλεοτιδίου κάθε αναπτυσσόμενης αλυσίδας. Έτσι, λέμε ότι αντιγραφή γίνεται με προσανατολισμό 5' προς 3'. Κάθε νεοσυντιθέμενη αλυσίδα θα έχει προσανατολισμό 5'→3'. Έτσι, σε κάθε διπλή έλικα που παράγεται οι δύο αλυσίδες θα είναι αντιπαράλληλες. Παράλληλα, καθώς προχωρά η αντιγραφή σε κάθε διχάλα, πρέπει να τοποθετούνται νέα νουκλεοτίδια απέναντι από τις μητρικές αλυσίδες σχεδόν ταυτόχρονα. Για να ακολουθηθεί αυτός ο κανόνας σε κάθε τμήμα DNA που γίνεται η αντιγραφή, η σύνθεση του DNA είναι συνεχής στη μια αλυσίδα και ασυνεχής στην άλλη κάθε διχάλας. Άρα σε επίπεδο θηλιάς, το ένα ήμισυ κάθε αλυσίδας αντιγράφεται συνεχώς και το άλλο ασυνεχώς.

β. Επειδή η σύνθεση των θυγατρικών αλυσίδων γίνεται πάντοτε με κατεύθυνση 5' → 3', ενώ οι θυγατρικές και οι μητρικές αλυσίδες είναι μεταξύ τους αντιπαράλληλες, τα σημεία 1 και 3 αντιστοιχούν στα 3' άκρα, ενώ τα σημεία 2 και 4 στα 5' άκρα.

Από τα τρία ασυνεχή τμήματα α, β και γ, αυτό που συντέθηκε πρώτο είναι αυτό που βρίσκεται πιο κοντά στη θέση έναρξης της αντιγραφής, η οποία βρίσκεται στα δεξιά του σχήματος. Επομένως από τα τρία ασυνεχή τμήματα που φαίνονται στο σχήμα, το τμήμα που συντέθηκε πρώτο είναι το γ.

40. Το παρακάτω τμήμα DNA που έχει απομονωθεί από το βακτήριο *E. coli*, περιέχει ένα γονίδιο μαζί με τμήμα του υποκινητή του, το οποίο ευθύνεται για τη σύνθεση ενός μόνο τετραπεπτιδίου.

... CTGACCCATGTC AAGAATACGACATCTGCACTATA...

... GACTGGGTACAGTTCTTATGCTGTAGACGTGATAT...

α. Να γράψετε τη μεταφραζόμενη περιοχή του mRNA που προκύπτει από το παραπάνω γονίδιο (μονάδες 2) και να σημειώσετε την κατεύθυνση της μεταγραφής στη μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου (μονάδες 2), αιτιολογώντας την απάντησή σας (μονάδες 2).

β. Να γράψετε τα τέσσερα τελευταία ζεύγη νουκλεοτιδίων του υποκινητή αυτού του γονιδίου, αν γνωρίζετε ότι η περιοχή του υποκινητή τελειώνει πέντε ζεύγη βάσεων πριν από το κωδικόνιο έναρξης του γονιδίου (μονάδες 3). Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας, επισημαίνοντας τη σημασία του υποκινητή στην έκφραση των γονιδίων (μονάδες 4).

Μονάδες 13

α. Η αλληλουχία της μεταφραζόμενης περιοχής του μορίου του mRNA που θα παραχθεί από την μεταγραφή του γονιδίου (χωρίς τις αμετάφραστες περιοχές του) είναι:

5'... AUG UCG UAU UCU ... 3

Το γονίδιο προέρχεται από προκαρυωτικό οργανισμό, οπότε είναι συνεχές χωρίς εσώνια. Παρατηρούμε ότι στην κάτω αλυσίδα και εφόσον αυτή διαβαστεί με κατεύθυνση 5'→3' από δεξιά προς τα αριστερά, εντοπίζονται το κωδικόνιο έναρξης 5'-ATG-3', το κωδικόνιο λήξης 5'-TGA-3' και ακέραιος αριθμός τριών ακόμα κωδικονίων ανάμεσά τους. Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι η κάτω αλυσίδα αποτελεί την κωδική αλυσίδα του γονιδίου. Συνεπώς, η πάνω είναι η μη κωδική αλυσίδα και είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη με την κωδική έχοντας κατεύθυνση 5'→3' από αριστερά προς τα δεξιά. Η μη κωδική αλυσίδα μεταγράφεται από την RNA πολυμεράση, για να συνθέσει το μόριο του mRNA με κατεύθυνση 5'→3' από δεξιά προς τα αριστερά.

β. Τα τέσσερα τελευταία ζεύγη δεοξυριβονουκλεοτιδίων του υποκινητή του γονιδίου εντοπίζο-

νται στην δεξιά πλευρά του τμήματος που δίνεται, και είναι:

5' STAT 3'
3' GATA 5'

Τα ρυθμιστικά στοιχεία της μεταγραφής κάθε γονιδίου είναι ο υποκινητής και οι μεταγραφικοί παράγοντες. Ο υποκινητής είναι μια σχετικά μικρή περιοχή που βρίσκεται λίγες βάσεις πριν την έναρξη του γονιδίου. Η RNA πολυμεράση προσδένεται στον υποκινητή με τη βοήθεια μεταγραφικών παραγόντων (που είναι ειδικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες) για να ξεκινήσει τη διαδικασία της μεταγραφής.

43. Στους προκαρυωτικούς οργανισμούς, όπως για παράδειγμα στην *Escherichia coli*, υπάρχουν μερικά γονίδια που μεταγράφονται συνεχώς και κωδικοποιούν πρωτεΐνες που χρειάζονται για τις βασικές λειτουργίες του κυττάρου. Δίνεται το παρακάτω τμήμα DNA που περιέχει ένα συνεχές γονίδιο που κωδικοποιεί ένα μικρό πεπτιδίο.

I- TCC ATATCGTA CCCTAATGCGT CGACGATCGGTATC
II AGGTATAGCATGGGATTACGCAGCTGCTAGCCATAG

α. Να βρείτε ποια από τις δύο αλυσίδες, I ή II, είναι η μεταγραφόμενη (μονάδα 1) αιτιολογώντας την απάντησή σας (μονάδες 2). Να γράψετε το mRNA που θα σχηματιστεί (μονάδες 2) και να σημειώσετε σε αυτό την 5' και 3' αμετάφραστη περιοχή (μονάδα 1).
β. Το mRNA του ερωτήματος (α) συνδέεται με ένα ριβόσωμα και ξεκινάει η διαδικασία της μετάφρασής του. Να υπολογίσετε πόσοι δεσμοί υδρογόνου θα σχηματιστούν όταν το πέμπτο tRNA συνδεθεί στο ριβόσωμα (μονάδες 3). Να βρείτε ποιο αντικωδικόνιο θα φέρει το τελευταίο tRNA που θα προσδεθεί στο ριβόσωμα για να ολοκληρωθεί η σύνθεση αυτού του μικρού πεπτιδίου (μονάδες 3).

Μονάδες 12

α. Η μεταγραφόμενη ή μη κωδική αλυσίδα ενός γονιδίου είναι η αλυσίδα DNA που χρησιμοποιείται ως καλούπι για τη σύνθεση του μορίου RNA. Εντοπίζουμε το 3'-TAC-5', που είναι συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο ως προς το κωδικόνιο έναρξης της μετάφρασης 5'-AUG-3' του mRNA και διαβάζουμε την αλληλουχία ανά τριάδες, συνεχώς και μη επικαλυπτόμενα, μέχρι να βρούμε ένα από τα 3'-ACT-5', 3'-ATT-5' και 3'-ATC-5' που είναι συμπληρωματικά και αντιπαράλληλα των κωδικονίων λήξης 5'-UGA-3', 5'-UAA-3' και 5'-UAG-3', αντίστοιχα. Εντοπίζουμε τα παραπάνω στην I αλυσίδα, όπως φαίνεται παρακάτω. Άρα η μεταγραφόμενη αλυσίδα είναι η I.

I- 3'- TCCATATCGT **TAC** | CCTAATGCGT | CGACG | ATCGGTATC-5'
II- 5'- AGGTATAGCATGGGATTACGCAGCTGCTAGCCATAG-3'

(εναλλακτικά: Η κωδική αλυσίδα είναι η II αφού σε αυτήν εντοπίζονται το κωδικόνιο έναρξης 5'-ATG-3', το κωδικόνιο λήξης 5'-TAG-3', καθώς και ακέραιος αριθμός τριπλετών ανάμεσά τους αφού πρόκειται για συνεχές γονίδιο. Άρα, η μεταγραφόμενη (μη κωδική) αλυσίδα είναι η I). Το mRNA που θα σχηματιστεί, θα είναι συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο της αλυσίδας I:

5'-AGGUAUAGCAUGGGAUUACGCAGCUGCUAGCCAUAG-3'
5' αμετ. περιοχή 3' αμετ. περιοχή

Οι 5' και 3' αμετάφραστες περιοχές σημειώνονται παραπάνω.

β. Όταν το πέμπτο tRNA συνδεθεί στο ριβόσωμα, μεταξύ του πέμπτου κωδικονίου (5'-AGC-3') και του πέμπτου αντικωδικονίου (3'-UCG-5') θα σχηματιστούν: $[1 \times 2] + [2 \times 3] = 8$ δεσμοί υδρογόνου.

Το τελευταίο tRNA που θα προσδεθεί στο ριβόσωμα θα φέρει το αντικωδικόνιο 3'-ACG-5' (ή 5'-GCA-3') επειδή θα συνδεθεί με το έκτο κωδικόνιο του mRNA (5'-UGC-3'). Δεν υπάρχει tRNA που να αντιστοιχεί στο κωδικόνιο λήξης.

45. Ο όρος “γονίδιο” αναφέρεται συχνά σε επιστημονικές και όχι μόνο συζητήσεις για να δηλώσει τον τρόπο με τον οποίο κληρονομείται και εκφράζεται ένα χαρακτηριστικό ή μια ιδιότητα των ζωντανών οργανισμών. Ωστόσο, αλλιώς διατυπώνουν τον ορισμό του γονιδίου οι μοριακοί βιολόγοι και αλλιώς οι γενετιστές.

α. Να ορίσετε το “γονίδιο” με βάση τη Μεντελική (μονάδες 3) και με βάση τη μεταγενέστερη μοριακή προσέγγιση (μονάδες 3).

β. Να εξηγήσετε ποιες βασικές διαδικασίες περιλαμβάνει η έκφραση ενός γονιδίου με βάση το κεντρικό δόγμα της μοριακής βιολογίας (μονάδες 3) και να αναλύσετε πως τροποποιείται το δόγμα αυτό στην περίπτωση των γονιδίων των ιών που έχουν RNA για γενετικό υλικό (μονάδες 3).

Μονάδες 12

α. 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. Αυτά αποτελούν δομικές και λειτουργικές μονάδες του DNA (ή του RNA των RNA ιών) με καθορισμένη αλληλουχία βάσεων και περιέχουν τις πληροφορίες που καθορίζουν όλα τα χαρακτηριστικά ενός οργανισμού. Τα γονίδια μεταγράφονται και παράγονται έτσι τα διάφορα είδη RNA ενός οργανισμού, εκ των οποίων το mRNA μεταφράζεται, περαιτέρω, σε πρωτεΐνες. Οι διαφορετικές μορφές του ίδιου χαρακτήρα ελέγχονται από αλληλόμορφα γονίδια, δηλαδή γονίδια που βρίσκονται στην ίδια θέση στα ομόλογα χρωμοσώματα και ελέγχουν την ίδια ιδιότητα.

β. Σύμφωνα με το κεντρικό δόγμα της Μοριακής Βιολογίας η πληροφορία, που υπάρχει στα τμήματα του DNA, τα γονίδια, διά μέσου της μεταγραφής και της μετάφρασης, καθορίζει τη σειρά των αμινοξέων στην πρωτεΐνη. Οι πορείες της μεταγραφής και της μετάφρασης των γονιδίων αποτελούν τη γονιδιακή έκφραση. Σήμερα είναι γνωστό ότι οι ιοί περιέχουν ένα μόνο είδος νουκλεϊκού οξέος, το οποίο μπορεί να είναι DNA ή RNA. Οι RNA ιοί έχουν συνήθως γραμμικό RNA (σπανίως κυκλικό), το οποίο μπορεί να είναι μονόκλωνο ή δίκλωνο. Ένα ένζυμο που υπάρχει στους ίδιους τους ιούς, η αντίστροφη μεταγραφάση, χρησιμοποιεί ως καλούπι το RNA, για να συνθέσει DNA. Επιπλέον, σε ορισμένους ιούς το RNA έχει την ικανότητα να αυτοδιπλασιάζεται. Όλα τα παραπάνω τροποποιούν το κεντρικό δόγμα της Μοριακής Βιολογίας, έτσι ώστε και το RNA να αυτοδιπλασιάζεται και να μεταγράφεται αντίστροφα προς DNA.

47. Οι πρωτεΐνες, τα νουκλεϊκά οξέα, οι πολυσακχαρίτες και τα λιπίδια είναι ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους, γνωστές ως μακρομόρια. Από το συνδυασμό αυτών των μακρομορίων προκύπτουν σύμπλοκες ενώσεις όπως οι γλυκοπρωτεΐνες, οι νουκλεοπρωτεΐνες, οι λιποπρωτεΐνες κ.ά., οι οποίες δομούν το κύτταρο.

α. Να αναφέρετε δύο παραδείγματα κυτταρικών δομών ή περιοχών του ευκαρυωτικού κυττάρου στις οποίες μπορεί να ανιχνευθεί μια νουκλεοπρωτεΐνη (σύμπλοκη ένωση που αποτελείται από δύο μακρομόρια) (μονάδες 6).

β. Να αναφέρετε σε ποιους χώρους του ευκαρυωτικού κυττάρου συντίθεται μια γλυκοπρωτεΐνη (μονάδες 2) και να εξηγήσετε το κυτταρικό επίπεδο ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης με το οποίο γίνεται η προσθήκη των σακχάρων στην πεπτιδική αλυσίδα (μονάδες 4).

Μονάδες 12

α. Δύο παραδείγματα κυτταρικών δομών, στα οποίες ανιχνεύονται νουκλεοπρωτεΐνες είναι ο πυρήνας, όπου εντοπίζεται η χρωματίνη, η οποία αποτελείται από DNA και πρωτεΐνες (και τα μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωμάτια - τα οποία αποτελούνται από snRNA και πρωτεΐνες) και το αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο όπου εντοπίζονται ριβοσώματα, τα οποία αποτελούνται από rRNA και πρωτεΐνες (εναλλακτικά: το κυτταρόπλασμα και τα μιτοχόνδρια - χλωροπλάστες όπου και εκεί εντοπίζονται ριβοσώματα).

β. Στα ριβοσώματα γίνεται η πρωτεϊνοσύνθεση. Ριβοσώματα υπάρχουν όχι μόνο στην επιφάνεια των μεμβρανών του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου, αλλά και ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα, καθώς επίσης και στα μιτοχόνδρια και στους χλωροπλάστες. Οι πρωτεΐνες που συντίθενται στα ριβοσώματα της επιφάνειας του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου εισέρχονται, στη συνέχεια, στο εσωτερικό των αγωγών του. Εκεί ενδέχεται να υποστούν τροποποιήσεις (π.χ. προσθήκη σακχάρων).

Το επίπεδο ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης, στο οποίο αναφέρεται η τελική σύνθεση, είναι το επίπεδο μετά τη μετάφραση, καθώς μετά την πρωτεϊνοσύνθεση η πρωτεΐνη δέχεται την προσθήκη σακχάρου, για να γίνει βιολογικά λειτουργική.

49. Η γενετική πληροφορία είναι η καθορισμένη σειρά των βάσεων, όπως η πληροφορία μιας γραπτής φράσης είναι η σειρά των γραμμάτων που την αποτελούν. Η πληροφορία υπάρχει σε τμήματα του DNA με συγκεκριμένη ακολουθία, τα γονίδια. Η διατήρηση και η μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας από κύτταρο σε κύτταρο και από οργανισμό σε οργανισμό εξασφαλίζονται με την αντιγραφή του DNA, ενώ η έκφραση των γενετικών πληροφοριών επιτυγχάνεται με τον έλεγχο της σύνθεσης των πρωτεϊνών.

α. Να αναφέρετε τις πορείες που αποτελούν τη γονιδιακή έκφραση στα ευκαρυωτικά κύτταρα (μονάδες 3). Να γράψετε ονομαστικά τα ένζυμα που τοποθετούν ριβονουκλεοτίδια κατά τα στάδια της αντιγραφής και της μεταγραφής του DNA και να εξηγήσετε τον τρόπο δράσης τους (μονάδες 3).

β. Έστω μία χημική ένωση X, που χρησιμοποιείται ως αντιβιοτικό και η οποία αποτελεί ένα νουκλεοτίδιο που περιέχει την αζωτούχο βάση θυμίνη, με τη διαφορά ότι στο 3' άνθρακα δε διαθέτει ελεύθερη υδροξυλομάδα. Η ένωση αυτή μπορεί να διαπερνά την πλασματική μεμβράνη των μικροοργανισμών, εναντίον των οποίων χρησιμοποιείται ως αντιβιοτικό, αλλά όχι των ανθρώπινων κυττάρων. Να εξηγήσετε ποιο μηχανισμό των μικροοργανισμών πιστεύετε ότι παρεμποδίζει η ένωση X ώστε να διακόπτει την εξάπλωσή τους (μονάδες 6).

Μονάδες 12

α. Οι πορείες της μεταγραφής ή/και της μετάφρασης των γονιδίων αποτελούν τη γονιδιακή έκφραση (τα γονίδια που κωδικοποιούν για rRNA, tRNA, snRNA μόνο μεταγράφονται). (Επιπρόσθετα μπορούν να αναφερθούν η ωρίμανση του mRNA και πιθανές μετα - μεταφραστικές τροποποιήσεις των πρωτεϊνών).

Κατά την αντιγραφή, επειδή οι DNA πολυμεράσες δεν έχουν την ικανότητα να αρχίσουν τη διαδικασία, ένα ειδικό σύμπλοκο ενζύμων, το πριμόσωμα, συνθέτει στις θέσεις έναρξης της αντιγραφής μικρά τμήματα RNA, τα πρωταρχικά τμήματα, συμπληρωματικά προς τις μητρικές αλυσίδες.

Κατά τη μεταγραφή, η RNA πολυμεράση προσδένεται στον υποκινητή και προκαλεί τοπικό ξετύλιγμα της διπλής έλικας του DNA. Στη συνέχεια, το ένζυμο τοποθετεί ριβονουκλεοτίδια απέναντι από τα δεοξυριβονουκλεοτίδια της μιας αλυσίδας του DNA σύμφωνα με τον κανόνα της συμπληρωματικότητας των βάσεων.

β. Κατά την αντιγραφή, οι DNA πολυμεράσες τοποθετούν συμπληρωματικά δεοξυριβονουκλε-

οτίδια απέναντι από τις μητρικές αλυσίδες του DNA. Οι DNA πολυμεράσες λειτουργούν μόνο προς καθορισμένη κατεύθυνση 5'→3' και τοποθετούν τα νουκλεοτίδια στο ελεύθερο 3' άκρο της δεοξυριβόζης του τελευταίου νουκλεοτιδίου κάθε αναπτυσσόμενης αλυσίδας. Συνεπώς η ουσία X, η οποία αποτελεί νουκλεοτίδιο θυμίνης, αλλά δε διαθέτει ελεύθερη 3' υδροξυλομάδα, παρεμποδίζει τον μηχανισμό της αντιγραφής των μικροοργανισμών με συνέπεια τον περιορισμό της εξάπλωσής τους (Δεν μπορεί να αναφερθεί η αντίστροφη μεταγραφή, γιατί σύμφωνα με την εκφώνηση οι μικροοργανισμοί διαθέτουν πλασματική μεμβράνη).

51. Οι μεμβράνες που δομούν το κύτταρο έχουν μια χαρακτηριστική σύσταση στην οποία κυριαρχούν τα λιπίδια -κυρίως φωσφολιπίδια- τα οποία συνδέονται με πρωτεΐνες, αλλά και με υδατάνθρακες. Αυτή η σύμπλοκη κατασκευή από μακρομόρια ονομάζεται απλή στοιχειώδης μεμβράνη.

α. Να αναφέρετε τρεις δομές (ή οργανίδια) του κυττάρου που διαθέτουν διπλή στοιχειώδη μεμβράνη (μονάδες 3), καθώς και δύο δομές (ή οργανίδια), τα οποία δε διαθέτουν μεμβράνη (μονάδες 3).

β. Να περιγράψετε τη μεμβράνη που περιβάλλει τον πυρήνα και να εξηγήσετε το ρόλο της (μονάδες 4). Να συσχετίσετε τον ρόλο της πυρηνικής μεμβράνης με το μετα-μεταγραφικό επίπεδο ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης του κυττάρου (μονάδες 2).

Μονάδες 12

α. Οι δομές του κυττάρου που διαθέτουν διπλή στοιχειώδη μεμβράνη είναι ο πυρήνας, οι χλωροπλάστες και τα μιτοχόνδρια. Οργανίδια που δε διαθέτουν μεμβράνη είναι ο πυρηνίσκος και το ριβόσωμα. Ο πυρήνας περιβάλλεται από τον πυρηνικό φάκελο ή πυρηνική μεμβράνη, που αποτελείται από δύο στοιχειώδεις μεμβράνες, μια εσωτερική και μια εξωτερική και η οποία έχει καθοριστική συμμετοχή στον έλεγχο των ουσιών που εισέρχονται ή εξέρχονται από τη συγκεκριμένη δομή. Η παρατήρηση του πυρηνικού φακέλου με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο δείχνει ότι κατά διαστήματα παρουσιάζει πόρους, που σχηματίζονται από τη συνένωση της εσωτερικής με την εξωτερική μεμβράνη. Οι πυρηνικοί πόροι παίζουν σημαντικό ρόλο στην επικοινωνία του πυρήνα με το κυτταρόπλασμα, γιατί ελέγχουν τα μακρομόρια που ανταλλάσσονται μεταξύ τους.

β. Στον πυρήνα πραγματοποιείται το πρώτο βήμα της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης δηλαδή η μεταγραφή του DNA και η παραγωγή όλων των τύπων RNA. Επίσης, στο πυρηνόπλασμα πραγματοποιείται και το μετα-μεταγραφικό επίπεδο ρύθμισης, κατά το οποίο ελέγχεται η ωρίμανση των πρόδρομων mRNA. Τέλος, η πυρηνική μεμβράνη συμπεριλαμβάνεται στους μηχανισμούς του μετα-μεταγραφικού επιπέδου ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης, που αφορά στην ταχύτητα που το ώριμο mRNA αφήνει τον πυρήνα και εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα.

53. Τα αντιβιοτικά είναι χημικές ουσίες που παράγονται από μικροοργανισμούς και θανατώνουν άλλους μικροοργανισμούς ή αναστέλλουν την ανάπτυξή τους. Πολλά αντιβιοτικά μπορούν να συντεθούν και χημικά, αλλά η διαδικασία είναι τόσο ακριβή και επίπονη που δεν μπορεί να συγκριθεί σε κόστος με την παραγωγή από βακτήρια και από μύκητες σε βιοαντιδραστήρες.

α. Να εξηγήσετε ποιους στόχους της εντατικής έρευνας για την ανακάλυψη νέων αντιβιοτικών εξυπηρετεί η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA (μονάδες 6).

β. Παρακάτω αναφέρονται τα ονόματα τριών αντιβιοτικών, καθώς και ο μηχανισμός δράσης τους σε διάφορα στάδια της γονιδιακής έκφρασης των βακτηρίων:

Ι. Κλυνδαμικίνη: παρεμποδίζει την πρόσδεση του mRNA στο ριβόσωμα,

II. Ριφαμυκίνη: συνδέεται με την RNA πολυμεράση και εμποδίζει τη δημιουργία του πρώτου φωσφοδιεστερικού δεσμού,

III. Χλωραμφενικόλη: παρεμποδίζει τη δημιουργία πεπτιδικού δεσμού.

Να εξηγήσετε σε ποιο συγκεκριμένο στάδιο της γονιδιακής έκφρασης του βακτηρίου δρα το κάθε αντιβιοτικό (μονάδες 6).

Μονάδες 12

α. Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA εφαρμόζεται με στόχο:

- Την κλωνοποίηση όλων των γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα απαραίτητα για τη βιοσύνθεση ενός αντιβιοτικού.

- Την ανάπτυξη αντιβιοτικών με ισχυρότερη δράση εναντίον ορισμένων μικροβίων και με λιγότερες παρενέργειες.

- Την κατασκευή γενετικά τροποποιημένων μικροοργανισμών με στόχο τη μεγαλύτερη απόδοση στην παραγωγή αντιβιοτικών.

β.

I. Η Κλυνδαμικίνη, δρα στο στάδιο της έναρξης της μετάφρασης, γιατί σε αυτό το στάδιο πραγματοποιείται η σύνδεση του mRNA με τη μικρή ριβοσωμική υπομονάδα.

II. Η Ριφαμυκίνη, παρεμβαίνει στο στάδιο της μεταγραφής και συγκεκριμένα στη σύνδεση των ριβονουκλεοτιδίων για τη δημιουργία RNA από την RNA πολυμεράση.

III. Η Χλωραμφενικόλη παρεμβαίνει στο στάδιο της επιμήκυνσης της πρωτεϊνοσύνθεσης κατά το οποίο, συνδέονται τα αμινοξέα που μεταφέρουν τα tRNA με πεπτιδικό δεσμό (άρα δρα στο στάδιο της μετάφρασης).

54. Με τη μεταγραφή, οι πληροφορίες που βρίσκονται στα γονίδια μεταφέρονται στο mRNA με βάση τη συμπληρωματικότητα των αζωτούχων βάσεων. Η αλληλουχία των βάσεων του mRNA καθορίζει την αλληλουχία των αμινοξέων στις πρωτεΐνες, με βάση έναν κώδικα αντιστοίχισης νουκλεοτιδίων mRNA με αμινοξέα πρωτεϊνών, ο οποίος ονομάζεται γενετικός κώδικας και περιγράφεται από ορισμένα βασικά χαρακτηριστικά.

α. Να εξηγήσετε γιατί ο γενετικός κώδικας χαρακτηρίζεται ως: 1. Κώδικας τριπλέτας και 2. Μη επικαλυπτόμενος (μονάδες 6).

β. Να εξηγήσετε σύμφωνα με ποια χαρακτηριστικά του γενετικού κώδικα μπορούν να ερμηνευτούν οι εξής παρατηρήσεις:

1. Η αλληλουχία mRNA: 5' AUG.GGG.CCC.UGA.CCC.UAA.3' οδήγησε στην παραγωγή του πεπτιδίου H₂N-μεθειονίνη-γλυκίνη-προλίνη-τρυπτοφάνη-προλίνη-COOH στο βακτήριο *Candidatus hodgkinia cicadicola* (βακτήριο που παρασιτεί στα τζιτζίκια και το οποίο δεν αναγνωρίζει όλα τα κωδικόνια λήξης) και του πεπτιδίου: H₂N-μεθειονίνη-γλυκίνη-προλίνη-COOH στο κυτταρόπλασμα ανθρώπινων κυττάρων (με δεδομένο ότι δεν έχουν ακολουθήσει μετα - μεταφραστικές τροποποιήσεις) (μονάδες 4).

2. Η αλληλουχία: 5' AUG.GGG.AUU.CCC.UAG 3', αλλά και 5' AUG.GGG.AUC.CCC.UAG3' παράγαν κατά τη μετάφρασή τους το ίδιο πεπτίδιο, H₂N-μεθειονίνη-γλυκίνη-ισολευκίνη- προλίνη-COOH, στο κυτταρόπλασμα ανθρώπινων κυττάρων (μονάδες 3).

Μονάδες 13

α. 1. Ο γενετικός κώδικας είναι κώδικας τριπλέτας, δηλαδή μια τριάδα νουκλεοτιδίων, το κωδικόνιο, κωδικοποιεί ένα αμινοξύ. 2. Ο γενετικός κώδικας είναι μη επικαλυπτόμενος, δηλαδή κάθε νουκλεοτίδιο ανήκει σε ένα μόνο κωδικόνιο.

β. 1. Ο γενετικός κώδικας είναι σχεδόν καθολικός, δηλαδή παρότι ισχύει σε όλους τους οργανισμούς, μπορούν να παρατηρηθούν κάποιες διαφοροποιήσεις, όπως στο βακτήριο *Candidatus*

hodgkinia cicadicola, στο οποίο το κωδικόνιο 5' UGA 3' δεν αποτελεί κωδικόνιο λήξης αλλά κωδικοποιεί ένα αμινοξύ: την τρυπτοφάνη.

2. 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. Σύμφωνα με το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό του κώδικα εξηγείται η παραγωγή του ίδιου πεπτιδίου από τις δύο διαφορετικές αλληλουχίες mRNA στα ανθρώπινα κύτταρα. Τα κωδικόνια 5' AUU 3' και 5' AUC 3' είναι συνώνυμα και κωδικοποιούν το αμινοξύ ισολευκίνη.

56. Η καναμυκίνη είναι ένα αντιβιοτικό που επιτρέπει την πρόσδεση οποιουδήποτε tRNA, κατά παράβαση της συμπληρωματικότητας κωδικονίου-αντικωδικονίου, στη δεύτερη θέση του ριβοσώματος, εμποδίζοντας την παραγωγή των πρωτεϊνών των μικροοργανισμών και αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό τους.

α. Να περιγράψετε τη δομή του ριβοσώματος αναλύοντας ποιες θέσεις πρόσδεσης διαθέτει (μονάδες 4) και να ονομάσετε τα μακρομόρια που το αποτελούν (μονάδες 2).

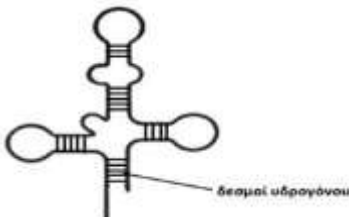
β. Να περιγράψετε το στάδιο της μετάφρασης στο οποίο παρεμβαίνει η καναμυκίνη (μονάδες 4) και να εξηγήσετε την πιθανή συνέπεια της παρέμβασης αυτής (μονάδες 3).

Μονάδες 13

α. Κάθε ριβόσωμα αποτελείται από δύο υπομονάδες, μια μικρή και μια μεγάλη. Διαθέτει μία θέση πρόσδεσης του mRNA στη μικρή υπομονάδα και δύο θέσεις εισδοχής των tRNA στη μεγάλη υπομονάδα. Τα μακρομόρια που το αποτελούν είναι rRNA και πρωτεΐνες.

β. Η καναμυκίνη παρεμβαίνει στο στάδιο της επιμήκυνσης της μετάφρασης. Κατά την επιμήκυνση, αμέσως μετά τη δημιουργία του συμπλόκου έναρξης της πρωτεϊνοσύνθεσης, ένα νέο μόριο tRNA με αντικωδικόνιο συμπληρωματικό του δεύτερου κωδικονίου του mRNA τοποθετείται στη δεύτερη θέση του ριβοσώματος, μεταφέροντας το δεύτερο αμινοξύ. Μεταξύ της μεθειονίνης και του δεύτερου αμινοξέος σχηματίζεται πεπτιδικός δεσμός και αμέσως μετά, το πρώτο tRNA αποσυνδέεται από το ριβόσωμα και απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα όπου συνδέεται πάλι με μεθειονίνη, έτοιμο για επόμενη χρήση. Το ριβόσωμα και το mRNA έχουν τώρα ένα tRNA, πάνω στο οποίο είναι προσδεμένα δύο αμινοξέα. Έτσι αρχίζει η επιμήκυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, η οποία συνεχίζει να αναπτύσσεται καθώς νέα tRNA, μεταφέροντας αμινοξέα τα οποία συνδέονται μεταξύ τους. Συνεπώς, η καναμυκίνη ανταγωνίζεται τα tRNA (που μεταφέρουν τα σωστά αμινοξέα) για τη δεύτερη θέση εισδοχής του ριβοσώματος, με αποτέλεσμα να μεταφέρονται τυχαία αμινοξέα και να αλλάζει η σύσταση (και συνεπώς η λειτουργικότητα) των πρωτεϊνών που προκύπτουν.

60. Στο διάγραμμα απεικονίζεται η δευτερογενής δομή ενός μορίου RNA στον χώρο. Στις αναδιπλούμενες περιοχές του μορίου κάθε γραμμή αντιπροσωπεύει ένα δεσμό υδρογόνου.



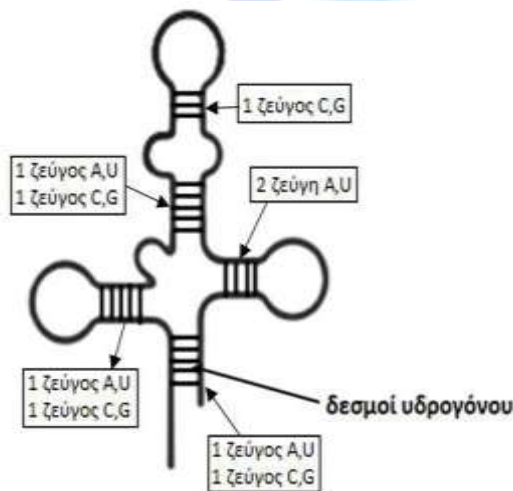
α. Να εξηγήσετε με ποιο τρόπο πιστεύετε ότι σταθεροποιείται η διαμόρφωση του μορίου RNA στο χώρο (μονάδες 2). Να προσδιορίσετε αν για την περιγραφή του μήκους ή της αλληλουχίας του συγκεκριμένου νουκλεϊκού οξέος θα χρησιμοποιούσατε τον όρο «αριθμός βάσεων» ή «α-

ριθμός ζευγών βάσεων» (μονάδα 1), δικαιολογώντας την απάντησή σας (μονάδες 3).

β. Κατά τον σχηματισμό του παραπάνω νουκλεϊκού οξέος αποσπάστηκαν (υποθετικά) 127 μόρια νερού. Να υπολογίσετε τον αριθμό των επαναλαμβανόμενων φωσφορικών ομάδων του παραπάνω RNA μορίου (μονάδες 3) και τον αριθμό των ζευγών των συμπληρωματικών βάσεων (A,U και C,G) μόνο στις αναδιπλωμένες περιοχές του μορίου, όπως προσδιορίζονται από το παραπάνω σχήμα (μονάδες 4).

Μονάδες 13

α. Το μονόκλωνο μόριο RNA αναδιπλώνεται σε ορισμένα σημεία. Η διαμόρφωση αυτή σταθεροποιείται με δεσμούς υδρογόνου, που σχηματίζονται ανάμεσα σε βάσεις που είναι συμπληρωματικές μεταξύ τους (G-C, A-U), παρά το γεγονός ότι στην περίπτωση αυτή ανήκουν στην ίδια αλυσίδα (μονόκλωνο μόριο). Για την περιγραφή του μήκους ή της αλληλουχίας του συγκεκριμένου νουκλεϊκού οξέος θα χρησιμοποιήσουμε τον όρο «αριθμός βάσεων» επειδή το μόριο είναι κατά το μεγαλύτερο τμήμα του μονόκλωνο και όχι δίκλωνο.



β. Κατά τον σχηματισμό του νουκλεϊκού οξέος αποσπάστηκαν 127 μόρια νερού οπότε σχηματίστηκαν 127 φωσφοδιεστερικοί δεσμοί. Επειδή το μόριο είναι μονόκλωνο, τα ριβονουκλεοτίδια θα είναι κατά ένα περισσότερα από τους φωσφοδιεστερικούς δεσμούς, δηλαδή 128. Κάθε ριβονουκλεοτίδιο διαθέτει μια φωσφορική ομάδα, άρα συνολικά το μόριο θα διαθέτει 128 επαναλαμβανόμενες φωσφορικές ομάδες. Παρατηρώντας τον αριθμό των δεσμών υδρογόνου (γραμμές) στις αναδιπλούμενες περιοχές του μορίου παρατηρούνται 5 ζεύγη A,U (που σχηματίζουν από δύο δεσμούς υδρογόνου) και 4 ζεύγη C,G (που σχηματίζουν από τρεις δεσμούς υδρογόνου), οπότε ο συνολικός αριθμός των ζευγών των συμπληρωματικών βάσεων είναι 9.

62. Οι πρωτεΐνες και τα πεπτίδια είναι θεμελιώδη συστατικά των κυττάρων που επιτελούν σημαντικές βιολογικές λειτουργίες. Δομικά, οι πρωτεΐνες και τα πεπτίδια εμφανίζουν μεγάλες ομοιότητες, καθώς αποτελούνται από αλυσίδες αμινοξέων που συγκρατούνται μεταξύ τους με πεπτιδικούς δεσμούς. Ένα ολιγοπεπτίδιο αναλύθηκε για τον προσδιορισμό της πρωτοταγούς δομής του. Η αλληλουχία των αμινοξέων του βρέθηκε να είναι:

$\text{HOOC} - \text{ala} - \text{ala} - \text{his} - \text{gly} - \text{ser} - \text{NH}_2$

όπου ser = σερίνη, his= ιστιδίνη, ala = αλανίνη, gly= γλυκίνη

α. Αν γνωρίζουμε ότι για τη δημιουργία κάθε πεπτιδικού δεσμού χάνεται ένα μόριο νερού, να προσδιορίσετε το μοριακό βάρος του ολιγοπεπτιδίου με βάση τις σχετικές μοριακές μάζες των αμινοξέων του παρακάτω πίνακα, λαμβάνοντας υπ' όψη ότι η σχετική μοριακή μάζα του νερού είναι 18 (μονάδες 5) και να εξηγήσετε ποιο από τα αμινοξέα της πεπτιδικής αλυσίδας τοποθετήθηκε πρώτο κατά τη διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης (μονάδες 2).

Αμινοξέα	ala	gly	his	ser
Μοριακό βάρος	90	70	150	100

β. Έστω ότι ένα άλλο πεπτίδιο αποτελείται από τα ίδια είδη αμινοξέων. Να γράψετε δύο λόγους για τους οποίους θα εμφανίζει, πιθανότατα, διαφορετική λειτουργία από το προαναφερόμενο πεπτίδιο (μονάδες 6).

Μονάδες 13

α. Το πεπτίδιο αποτελείται από 5 αμινοξέα. Μεταξύ των αμινοξέων αναπτύσσονται 4 πεπτιδικοί δεσμοί οι οποίοι δημιουργούνται με την αντίδραση (συμπύκνωσης) μεταξύ της καρβοξυλομάδας του ενός και της αμινομάδας του άλλου. Από κάθε σύνδεση δύο αμινοξέων αφαιρείται ένα μόριο νερού. Το μοριακό βάρος του ολιγοπεπτιδίου προσδιορίζεται με βάση τον αριθμό και τη σχετική μοριακή μάζα κάθε αμινοξέος που το αποτελεί, αν αφαιρέσουμε το μοριακό βάρος ενός μορίου νερού ανά πεπτιδικό δεσμό:

$$Mr_{\text{ολιγοπεπτιδίου}} = 2 \times Mr_{\text{ala}} + 1 \times Mr_{\text{his}} + 1 \times Mr_{\text{gly}} + 1 \times Mr_{\text{ser}} - 4 \times 18 =$$

$$= (2 \times 90 + 1 \times 150 + 1 \times 70 + 1 \times 100) - 72 = 428$$

Κατά την τοποθέτηση των αμινοξέων σε μία πεπτιδική αλυσίδα το πρώτο αμινοξύ συνδέεται με το διπλανό του μέσω της καρβοξυλομάδας του. Άρα, έχει πάντα ελεύθερη την αμινομάδα του και το τελευταίο έχει ελεύθερη την καρβοξυλομάδα. Συνεπώς, το πρώτο αμινοξύ που τοποθετήθηκε ήταν η σερίνη.

β. Ένα διαφορετικό ολιγοπεπτίδιο με τα ίδια ακριβώς αμινοξέα μπορεί να εμφανίζει διαφορετική λειτουργία επειδή δημιουργείται διαφορετική πρωτοταγής δομή λόγω του διαφορετικού πλήθους των αμινοξέων που το αποτελούν σε συνδυασμό με τη διαφορετική σειρά (αλληλουχία) με την οποία έχουν συνδεθεί αυτά τα αμινοξέα. Έτσι, αλλάζει και η διαμόρφωση του πεπτιδίου στο χώρο, καθώς η δυνατότητα να σχηματιστούν δεσμοί αλυσίδας. Εφόσον αλλάζει η διαμόρφωση στο χώρο, αλλάζει και η λειτουργικότητά του.

64. Σήμερα γνωρίζουμε ότι στη δρεπανοκυτταρική αναιμία, υπάρχει γονιδιακή αντικατάσταση βάσης στο 7ο κωδικόνιο του φυσιολογικού γονιδίου της β αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης HbA των ενηλίκων, η οποία οδηγεί σε αλλαγή αμινοξέος στην 6η θέση της παραγόμενης πεπτιδικής β αλυσίδας. Παρακάτω δίνεται τμήμα από το πρώτο εξώνιο του γονιδίου που κωδικοποιεί τη β-αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης HbA δύο διαφορετικών αλληλομόρφων, του β1 και β2 (το ένα είναι φυσιολογικό και το άλλο μεταλλαγμένο και υπεύθυνο για δρεπανοκυτταρική αναιμία).

Αλληλόμορφο γονίδιο β1

AAAAAAATGGTGCACCTTACGCCAGAGGAG
TTTTTTTACCACGTGGAATGCGGTCTCCTC

Αλληλόμορφο γονίδιο β2

AAAAAAATGGTGCACCTTACGCCAGTGGAG
TTTTTTTACCACGTGGAATGCGGTCACCTC

α. Ποιο από τα δύο αλληλόμορφα γονίδια πιστεύετε ότι είναι το φυσιολογικό και ποιο το μεταλλαγμένο (μονάδες 2); Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 4).

β. Ένα άτομο πάσχει από σύνδρομο Klinefelter και ταυτόχρονα εμφανίζει δρεπανοκυτταρική αναιμία και μερική αχρωματοψία στο πράσινο και κόκκινο χρώμα. Να προσδιορίσετε, αιτιολογώντας την απάντησή σας, τον αριθμό των φυσιολογικών και των μεταλλαγμένων αλληλο-

μόρφων γονιδίων που φέρει το άτομο αυτό σε κάθε σωματικό του κύτταρο, κατά την πρόφαση της μίτωσης, ως προς τις δύο ασθένειες που αναφέρονται (μονάδες 7).

Μονάδες 13

α. Το αλληλόμορφο γονίδιο β1 είναι το φυσιολογικό ενώ το αλληλόμορφο γονίδιο β2 είναι το μεταλλαγμένο. Στο αλληλόμορφο β1 το 7^ο κωδικόνιο, στην κωδική αλυσίδα είναι GAG, ενώ στο αλληλόμορφο β2 το 7^ο κωδικόνιο, στην κωδική αλυσίδα είναι GTG.

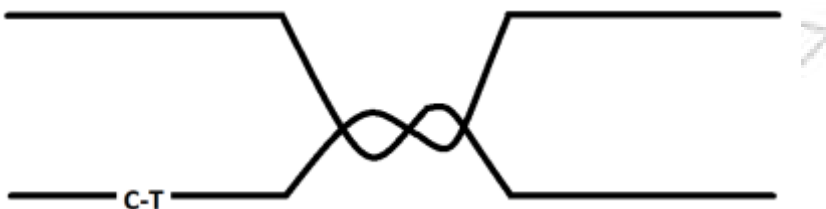
Αλληλόμορφο γονίδιο β1 AAAAAAATG GTGCACCTTACGCCA GAGGAG
TTTTTTTACCACGTGGAATGCGGTCTCCTC

Αλληλόμορφο γονίδιο β2 AAAAAAATG GTGCACCTTACGCCA GTGGAG
TTTTTTTACCACGTGGAATGCGGTACCTC

β. Το άτομο που πάσχει από δρεπανοκυτταρική αναιμία έχει γονότυπο $b^s b^s$, όπου b^s το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο για δρεπανοκυτταρική αναιμία. Συνεπώς, ο αριθμός των μεταλλαγμένων αλληλομόρφων γονιδίων b^s ($\beta 2$) για την δρεπανοκυτταρική αναιμία είναι 2 στα σωματικά κύτταρά του στην αρχή της μεσόφασης, ενώ δεν έχει κανένα φυσιολογικό B αλληλόμορφο ($\beta 1$). Τα άτομα με σύνδρομο Klinefelter έχουν φυσιολογικό αριθμό αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων (44) και τρία φυλετικά χρωμοσώματα, τα XXY, αντί του φυσιολογικού ζεύγους XY. Άρα, ως προς μερική αχρωματοψία στο πράσινο και κόκκινο χρώμα έχει γονότυπο $X^{\delta} X^{\delta} Y$ όπου X^{δ} το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο για μερική αχρωματοψία, το οποίο είναι φυλοσύνδετο. Άρα στην αρχή της πρόφασης της μίτωσης, που έχει ήδη πραγματοποιηθεί η αντιγραφή του γενετικού υλικού, το άτομο θα έχει 4 μεταλλαγμένα αλληλόμορφα b^s ($\beta 2$) και 4 αλληλόμορφα X^{δ} , ενώ δεν διαθέτει κανένα φυσιολογικό αλληλόμορφο $\beta 1$ ή X^A .

68. Η αντιγραφή του DNA αρχίζει από καθορισμένα σημεία, που ονομάζονται θέσεις έναρξης της αντιγραφής. Το ευκαρυωτικό DNA έχει πολυάριθμες θέσεις έναρξης της αντιγραφής. Έτσι, το DNA των ευκαρυωτικών κυττάρων αντιγράφεται ταυτόχρονα από εκατοντάδες σημεία σε όλο το μήκος του και στη συνέχεια τα τμήματα που δημιουργούνται ενώνονται μεταξύ τους. Στην παρακάτω εικόνα απεικονίζεται το σημείο στο οποίο συναντώνται δύο διχάλες αντιγραφής γειτονικών θηλιών. Αν για τη δημιουργία του δεσμού μεταξύ C και T, η κυτοσίνη συμμετέχει με τη φωσφορική της ομάδα:

α. Να ξανασχεδιάσετε το σχήμα υποδεικνύοντας τις θέσεις έναρξης

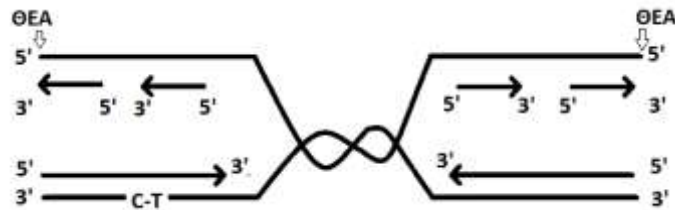


της αντιγραφής (μονάδες 2), τους προσανατολισμούς των δύο αλυσίδων (μονάδες 2) και να συμπληρώσετε τα συνεχή και ασυνεχή τμήματα που δημιουργούνται κατά την αντιγραφή των παραπάνω δύο διχάλων (μονάδες 2).

β. Να εξηγήσετε ποια είδη αντιδράσεων καταλύουν οι DNA πολυμεράσες (μονάδες 2) και ποια οι DNA ελικάσες (μονάδες 2). Να περιγράψετε με ποιον τρόπο θα συνδεθούν τα τμήματα από τις δύο αυτές διχάλες που ανήκουν σε διαφορετικές θηλιές (μονάδες 3).

Μονάδες 13

α.



β. Οι DNA πολυμεράσες καταλύουν τη δημιουργία αλλά και τη διάσπαση 3'-5' φωσφοδιεστερικών δεσμών κατά τη δράση πολυμερισμού ή κατά τον επιδιορθωτικό τους ρόλο ή κατά την αφαίρεση των πρωταρχικών τμημάτων, αντίστοιχα. Οι ελικάσες διασπούν δεσμούς H, οδηγώντας στην αποδιάταξη των δύο αλυσίδων DNA στις θέσεις έναρξης της αντιγραφής. Όταν ανοίξει η διπλή έλικα, δημιουργείται μια «θηλιά», η οποία αυξάνεται και προς τις δύο κατευθύνσεις. Τα κομμάτια των δύο διχάλων από τις δύο θέσεις έναρξης της αντιγραφής (αλλά και τα τμήματα της ασυνεχούς αλυσίδας) συνδέονται μεταξύ τους με τη βοήθεια ενός ενζύμου, που ονομάζεται DNA δεσμάση.

70. Η παρακάτω αλληλουχία νουκλεοτιδίων DNA περιλαμβάνει ένα γονίδιο που κωδικοποιεί ένα μικρό πεπτίδιο. Το πεπτίδιο αυτό λειτουργεί ως ένζυμο που καταλύει μία ειδική αντίδραση του μεταβολισμού σε ανθρώπινα μυϊκά κύτταρα.

I CTGATATGTA CTGCCATCGACACAGAAATTCTGACG II

III GACTATACATGACGGGTAGCTGTGTCTTTAAGACTGC IV

Τα t-RNA που χρησιμοποιήθηκαν κατά σειρά στη μετάφραση του mRNA για την παραγωγή του πεπτιδίου, είχαν τα αντικωδικόνια:

3' UAC 5', 3' AUG 5', 3' ACC 5', 3' UGU 5', 3' GUC 5', 3' UUU 5', 3' AAG 5'.

α. Να εξηγήσετε ποια αλυσίδα, η πάνω ή η κάτω, είναι η κωδική αλυσίδα του γονιδίου (μονάδες 4) και να αντιστοιχίσετε τις θέσεις I, II, III και IV στα 3' και 5' άκρα των πολυνουκλεοτιδικών αλυσίδων (μονάδες 2).

β. Να γράψετε την αλληλουχία του mRNA που εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα των μυϊκών κυττάρων στα οποία εκφράζεται το γονίδιο αυτό (μονάδες 3).

γ. Να εξηγήσετε, αν για τη βιοτεχνολογική παραγωγή του πεπτιδίου από μετασχηματισμένα βακτήρια, θα χρησιμοποιήσουμε αντίγραφα του γονιδίου από γονιδιωματική ή cDNA βιβλιοθήκη (μονάδες 4).

Μονάδες 13

α. Η σειρά των κωδικονίων του mRNA με τα οποία θα συνδεθούν τα tRNA κατά τη διαδικασία της μετάφρασης, είναι:

5' AUG UAC UGG ACA CAG AAA UUC 3'.

Συγκρίνοντας τις αλληλουχίες των δύο αλυσίδων και λαμβάνοντας υπόψη ότι το mRNA και η κωδική αλυσίδα του γονιδίου έχουν τον ίδιο προσανατολισμό και την ίδια αλληλουχία βάσεων (με τη διαφορά ότι το νουκλεοτίδιο της U στο mRNA είναι νουκλεοτίδιο της T στην κωδική αλυσίδα), εντοπίζουμε τα κωδικόνια στην πάνω αλυσίδα, τα οποία διακόπτονται από την αλληλουχία του εσωνίου 5' CCCATC 3'. Συνεπώς, η αλυσίδα με άκρα I και II είναι η κωδική, με προσανατολισμό: I – 5', II – 3' και επειδή οι δύο αλυσίδες είναι αντιπαράλληλες, η αλυσίδα με άκρα III και IV είναι η μη κωδική με προσανατολισμό III – 3' και IV – 5'.

β. Τα περισσότερα γονίδια των ευκαρυωτικών οργανισμών είναι ασυνεχή ή διακεκομμένα, με αποτέλεσμα από τη μεταγραφή τους να προκύπτει πρόδρομο mRNA, το οποίο υφίσταται διαδικασία ωρίμανσης και μετατρέπεται σε ώριμο πριν εξέλθει από τον πυρήνα για να μεταφρα-

στεί. Επομένως, το mRNA που εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα των μυϊκών κυττάρων στα οποία εκφράζεται το γονίδιο, θα είναι το ώριμο mRNA, η αλληλουχία του οποίου θα είναι: 5'-CUGAU AUG UAC UGG ACA CAG AAA UUC UGA CG-3'.

γ. Επειδή το ανθρώπινο γονίδιο είναι ασυνεχές και τα βακτήρια, ως προκαρυωτικοί οργανισμοί, δεν διαθέτουν αντίστοιχους μηχανισμούς ωρίμανσης του πρόδρομου mRNA, θα χρησιμοποιηθούν αντίγραφα του γονιδίου από cDNA βιβλιοθήκη.

71. Το παρακάτω τμήμα DNA περιλαμβάνει την αλληλουχία του υποκινητή ενός γονιδίου το οποίο εκφράζεται σε μυϊκά κύτταρα ποντικού. Η αλληλουχία του υποκινητή είναι η 5' TATTACG 3' και η συμπληρωματική της. Το τμήμα DNA πρόκειται να κοπεί από την περιοριστική ενδονουκλεάση HindIII, προκειμένου να κλωνοποιηθεί σε μία βιβλιοθήκη. Η συγκεκριμένη περιοριστική ενδονουκλεάση αναγνωρίζει παλίνδρομη αλληλουχία δίκλωνου DNA μήκους 6 ζευγών βάσεων, στην οποία διασπά το φωσφοδιεστερικό δεσμό των νουκλεοτιδίων με βάσεις A και A (Παλίνδρομη ονομάζεται μία αλληλουχία βάσεων η οποία στην συμπληρωματική αλυσίδα δίκλωνου DNA έχει την πανομοιότυπή της, όταν διαβάζεται με τον ίδιο προσανατολισμό π.χ. 5'→3').

T T C G A A G A T A A T G C T T C G A A
A A G C T T C T A T T A C G A A G C T T

α. Να γράψετε τη δίκλωνη αλληλουχία DNA που αναγνωρίζει η περιοριστική ενδονουκλεάση HindIII, με τον προσανατολισμό της (μονάδες 4) και να υποδείξετε με αστερίσκο τη θέση των φωσφοδιεστερικών δεσμών που διασπά κατά τη δράση της (μονάδες 2).

β. Να εξηγήσετε ποιο είδος βιβλιοθήκης (γονιδιωματική ή cDNA) κατασκεύασαν οι επιστήμονες για να κλωνοποιήσουν τον υποκινητή (μονάδες 3) και να γράψετε μία πιθανή αλληλουχία RNA μήκους 10 βάσεων που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ανιχνευτής από τους ερευνητές προκειμένου να απομονωθεί ο κλώνος βακτηρίων που την περιέχει (μονάδες 3).

Μονάδες 12

α. Η αλληλουχία που αναγνωρίζει η HindIII είναι η παρακάτω:

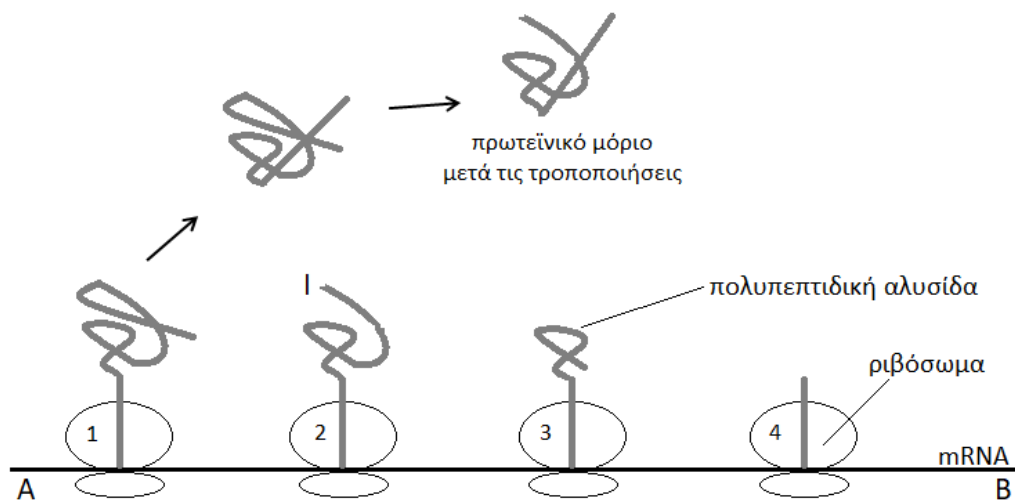
3' T T C G A *A 5'
5' A* A G C T T 3'

β. Οι ερευνητές θα πρέπει να χρησιμοποιήσουν γονιδιωματική βιβλιοθήκη, η οποία περιέχει το συνολικό DNA του οργανισμού δότη και κατ' επέκταση τους υποκινητές των γονιδίων ή τμήματα αυτών. Μία πιθανή αλληλουχία RNA που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως ανιχνευτής είναι: 5'UCUAUUACGA3', η οποία είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη με την πάνω αλυσίδα του τμήματος που έχει δοθεί. (Εναλλακτικά: 3'GAAGAUAAUG5', η οποία είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη με την κάτω αλυσίδα).

5' U C U A U U A C G A 3'
3' T T C G A A G A T A A T G C T T C G A A 5'
5' A A G C T T C T A T T A C G A A G C T T 3'
3' G A A G A U A A U G 5'

74. Στο παρακάτω σχήμα απεικονίζεται ένα μόριο mRNA, στο οποίο έχουν ταυτόχρονα συνδεθεί κατά μήκος του τέσσερα ριβοσώματα και το μεταφράζουν. Στη συνέχεια, τα πρωτεϊνικά

μόρια που παράγονται υφίσταται τροποποιήσεις για να γίνουν βιολογικά λειτουργικά.



α. Να εξηγήσετε ποιο από τα τέσσερα ριβοσώματα του διαγράμματος συνδέθηκε χρονικά πρώτο στο mRNA για να ξεκινήσει τη μετάφρασή του (μονάδες 3) και να σημειώσετε την κατεύθυνση του mRNA (σημειώνοντας τη σωστή ένδειξη στα άκρα A και B), αιτιολογώντας την απάντησή σας (μονάδες 3).

β. Να εξηγήσετε αν αυτό το στιγμιότυπο πολυσώματος προέρχεται από ένα προκαρυωτικό ή ένα ευκαρυωτικό κύτταρο, αν γνωρίζετε επιπλέον ότι η διαδικασία μεταγραφής αυτού του mRNA είχε ολοκληρωθεί πριν ξεκινήσει η μετάφρασή του (μονάδες 3).

γ. Να αναφέρετε αν στο σημείο I της πολυπεπτιδικής αλυσίδας υπάρχει το αμινικό ή το καρβοξυλικό άκρο (μονάδα 1). Να δώσετε ένα παράδειγμα τροποποίησης που μπορεί να υποστούν τα πρωτεϊνικά μόρια μετά τη σύνθεσή τους (μονάδες 3).

Μονάδες 13

α. Το ριβόσωμα 1 συνδέθηκε χρονικά πρώτο στο mRNA και ξεκίνησε τη μετάφρασή του, επειδή η πολυπεπτιδική αλυσίδα που σχηματίζεται σε αυτό έχει το μεγαλύτερο μήκος συγκριτικά με τις αλυσίδες που έχουν σχηματιστεί στα υπόλοιπα ριβοσώματα. Συνεπώς, η κατεύθυνση της μετάφρασης είναι από το B προς το A. Επειδή η διαδικασία της μετάφρασης ξεκινάει πάντα με τη πρόσδεση της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος στο 5' άκρο του mRNA, το B θα είναι το 5' και το A το 3' άκρο του mRNA.

β. Τα πολυσώματα υπάρχουν τόσο στα προκαρυωτικά, όσο και στα ευκαρυωτικά κύτταρα. Στους προκαρυωτικούς οργανισμούς, το mRNA αρχίζει να μεταφράζεται σε πρωτεΐνη πριν ακόμα ολοκληρωθεί η μετάφρασή του. Αντίθετα, στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς δεν συμβαίνει αυτό διότι πραγματοποιείται η διαδικασία της ωρίμανσης του mRNA πριν από την έναρξη της διαδικασίας της μετάφρασης. Εφόσον η διαδικασία μεταγραφής αυτού του mRNA είχε ολοκληρωθεί πριν ξεκινήσει η μετάφρασή του, το στιγμιότυπο αυτό θα αφορά ένα ευκαρυωτικό κύτταρο (επισήμανση: οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των πρωτεϊνών πραγματοποιούνται στα ευκαρυωτικά και πιο σπάνια και στα προκαρυωτικά κύτταρα).

γ. Στο σημείο I της πολυπεπτιδικής αλυσίδας βρίσκεται το αμινικό άκρο. Ένα παράδειγμα τροποποίησης που υφίστανται τα πρωτεϊνικά μόρια μετά την σύνθεσή τους (μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις) είναι η απομάκρυνση ορισμένων αμινοξέων, συνήθως από το αρχικό αμινικό τους άκρο (εναλλακτικά: η αφαίρεση ενός ενδιάμεσου πεπτιδίου, όπως στη περίπτωση της ινσουλίνης που προκύπτει από την προϊνσουλίνη ή/και η προσθήκη μη πρωτεϊνικών μορίων, όπως σακχάρων).

76. Η τιτίνη, η μεγαλύτερη γνωστή πρωτεΐνη του ανθρώπινου σώματος, συναντάται στα μυϊκά κύτταρα των σκελετικών μυών και της καρδιάς. Ας θεωρήσουμε, για λόγους απλούστευσης, ότι το γονίδιο που κωδικοποιεί τη πρωτεΐνη αυτή φέρει επτά εξώνια και έξι εσώνια. Κατά την εμβρυϊκή περίοδο, παράγονται μεγάλες ποσότητες της πρωτεΐνης αυτής από τη μετάφραση ώριμων μορίων mRNA, τα οποία προέρχονται από τη συρραφή όλων των εξωνίων. Όμως, κατά την ενήλικη ζωή, βρέθηκε ότι από το ίδιο γονίδιο κωδικοποιείται μια μικρότερου μεγέθους πρωτεΐνη με διαφορετικές ιδιότητες. Η ενήλικη πρωτεΐνη παράγεται από ώριμα μόρια mRNA μικρότερου μήκους που έχουν προκύψει από τη συρραφή μόνο των εξωνίων 1,2,3 και 7 του ίδιου πρόδρομου mRNA. Η εναλλακτική αυτή συναρμολόγηση του mRNA που μπορεί να συμβεί υπό συγκεκριμένες συνθήκες κατά την ωρίμανσή του ονομάζεται εναλλακτικό μάτισμα και επιτρέπει τη κωδικοποίηση, από το ίδιο γονίδιο, περισσότερων του ενός πολυπεπτιδίων.

α. Να σχεδιάσετε το γονίδιο της τιτίνης, δείχνοντας τη θέση του υποκινητή, των εξωνίων, των εσωνίων, καθώς και τις αλληλουχίες λήξης της μεταγραφής (μονάδες 4).

β. Να ονομάσετε τα ένζυμα που εμπλέκονται στο σχηματισμό των ώριμων μορίων mRNA (μονάδα 1). Να σχεδιάσετε τα δύο διαφορετικά ώριμα mRNA που προκύπτουν από το γονίδιο αυτό κατά την εμβρυϊκή και ενήλικη ζωή, αντίστοιχα (μονάδες 4).

γ. Να προβλέψετε εάν θα επηρεαστεί η δομή και η λειτουργία της τιτίνης που συντίθεται τόσο κατά την ενήλικη ζωή, όσο και κατά την εμβρυϊκή περίοδο, στην περίπτωση που συμβεί αντικατάσταση βάσης που οδηγεί σε πρόωρο κωδικόνιο λήξης εντός του εξωνίου 4, σε κύτταρα που εκφράζουν τα αντίστοιχα γονίδια (μονάδες 4).

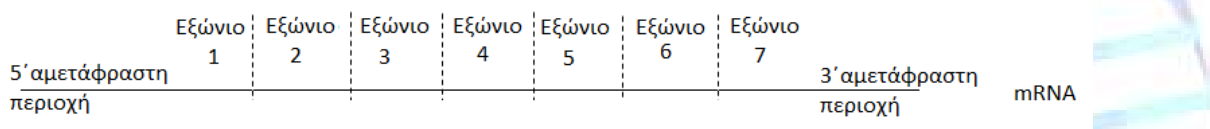
Μονάδες 13

α. Το γονίδιο της τιτίνης σχηματικά θα είναι ως εξής:

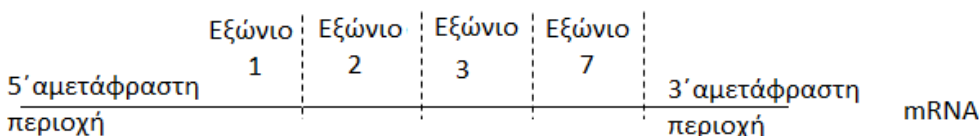


β. Τα ένζυμα που καταλύουν την ωρίμανση του mRNA είναι τα μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά «σωματίδια».

Το ώριμο mRNA που σχηματίζεται κατά την εμβρυϊκή ηλικία θα είναι:



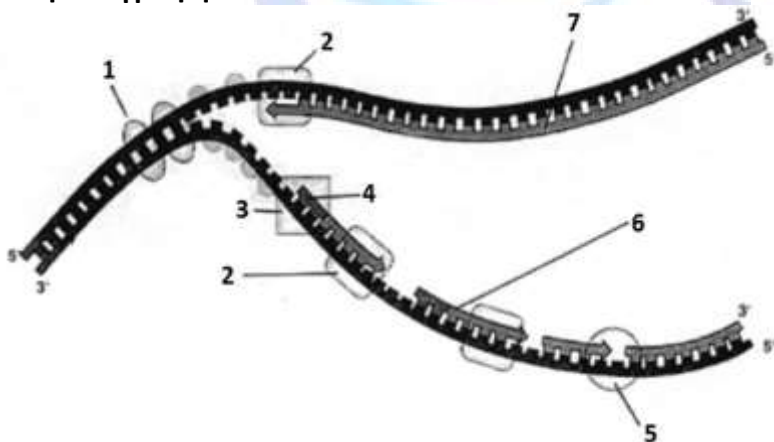
Το ώριμο mRNA που σχηματίζεται κατά την ενήλικη ζωή είναι:



γ. Στους ενήλικες, επειδή κατά τη διαδικασία του εναλλακτικού ματίσματος το ώριμο mRNA

που σχηματίζεται φέρει μόνο τα εξώνια 1,2,3 και 7, το εξώνιο 4 δεν θα εμφανίζεται στο ώριμο mRNA. Άρα, η μετάλλαξη αυτή δεν θα έχει κανένα αντίκτυπο στη δομή και τη λειτουργία της τιτίνης που παράγεται κατά την ενήλικη ζωή. Αντίθετα, η μετάλλαξη αυτή θα επηρεάσει τη δομή της τιτίνης που παράγεται κατά την εμβρυϊκή ηλικία, καθώς το εξώνιο 4 συρράπτεται μαζί με τα υπόλοιπα εξώνια για το σχηματισμό του ώριμου mRNA. Λόγω του πρόωρου κωδικονίου λήξης που δημιουργείται, θα συντεθεί μικρότερου μεγέθους πρωτεΐνη σε σχέση με τη φυσιολογική και συνεπώς, θα επηρεαστεί και η λειτουργία της.

78. Παρά το γεγονός ότι η αντιγραφή του DNA είναι μια ιδιαίτερα πολύπλοκη διαδικασία, τα κύτταρα διαθέτουν ένα σημαντικό οπλοστάσιο ενζύμων και άλλων πρωτεϊνών που λειτουργούν ταυτόχρονα και καταλύουν τις χημικές αντιδράσεις της αντιγραφής με μεγάλη ταχύτητα και εκπληκτική ακρίβεια. Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται ένα τμήμα DNA στο οποίο εξελίσσεται η αντιγραφή του.

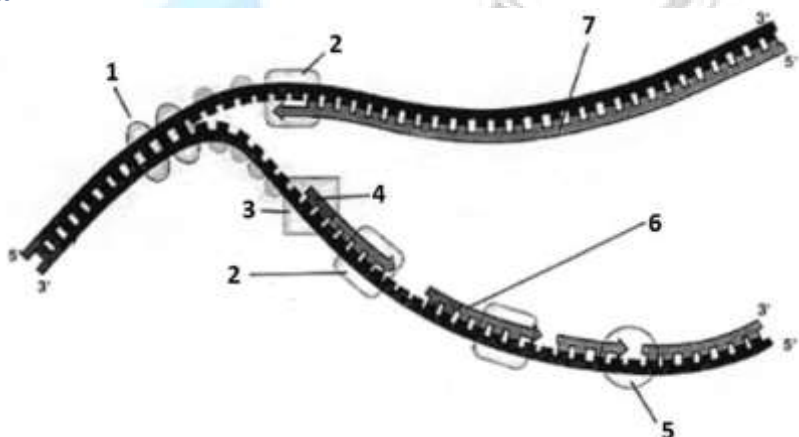


α. Να ονομάσετε τα ένζυμα που δρουν στις θέσεις 1,2,3 και 5 και να χαρακτηρίσετε τα τμήματα που αντιστοιχούν στους αριθμούς 4, 6 και 7 (μονάδες 7).

β. Να υποδείξετε τη θέση έναρξης της αντιγραφής στη διχάλα που δίνεται, αιτιολογώντας την απάντησή σας (μονάδες 4) και να ονομάσετε τα ένζυμα της παραπάνω διαδικασίας που έχουν την ικανότητα να διασπών φωσφοδιεστερικούς δεσμούς (μονάδες 2).

Μονάδες 13

α.



1. DNA ελικάσες, 2. DNA πολυμεράση, 3. Πριμόσωμα, 5. DNA δεσμάση, 4. Πρωταρχικό τμήμα, 6. Ασυνεχές τμήμα που συντίθεται από την DNA πολυμεράση και 7. τμήμα που συντίθεται συνεχώς από την DNA πολυμεράση.

β. Η θέση έναρξης της αντιγραφής (Θ.Ε.Α.) βρίσκεται στο δεξιό μέρος της εικόνας γιατί το άνοιγμα της θηλιάς πραγματοποιείται από την Θ.Ε.Α. προς το δίχαλο που ανοίγει προς τα αριστερά. Έτσι, από το ύψος της Θ.Ε.Α. ξεκινά η σύνθεση της μιας από τις δύο νεοσυντιθέμενες

αλυσίδες με συνεχή τρόπο (πάνω αλυσίδα) και με κατεύθυνση 5' → 3' από τη Θ.Ε.Α. προς το άνοιγμα της θηλιάς. Σχεδόν ταυτόχρονα η δεύτερη νεοσυντιθέμενη αλυσίδα συντίθεται με ασυνεχή τρόπο με κατεύθυνση 5' → 3', και με πρώτο ασυνεχές τμήμα εκείνο που βρίσκεται πιο κοντά στη Θ.Ε.Α. Ένζυμα που διασπούν φωσφοδιεστερικούς δεσμούς είναι η DNA πολυμεράση, κατά τον επιδιορθωτικό της ρόλο και κατά την αντικατάσταση των πρωταρχικών τμημάτων RNA, καθώς και τα επιδιορθωτικά ένζυμα.

88. Τμήμα της κωδικής αλυσίδας ενός βακτηριακού γονιδίου, που περιλαμβάνει τα 6 τελευταία κωδικόνια μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται και το κωδικόνιο για την αλανίνη, έχει την παρακάτω αλληλουχία:

5' ... TGAACGGAGCCTACCCATAGG ... 3'

α. Να γράψετε τα 6 κωδικόνια που περιλαμβάνονται στην παραπάνω αλληλουχία της κωδικής αλυσίδας του βακτηριακού γονιδίου (μονάδες 6).

β. Όταν σπάζει ο δεσμός που συνδέει την αλανίνη με το tRNA που τη μετέφερε, να εξηγήσετε με ποιο αμινοξύ συνδέεται η αλανίνη (μονάδα 1) και μέσω ποιων χημικών ομάδων του κάθε αμινοξέος γίνεται η σύνδεσή τους (μονάδες 2).

γ. Κατά τη διαδικασία της μετάφρασης του βακτηριακού γονιδίου, να εξηγήσετε ποιο είναι το αντικωδικόνιο του tRNA που θα προσδεθεί στο ριβόσωμα, όταν το tRNA που μεταφέρει την αλανίνη εγκαταλείψει το ριβόσωμα (μονάδες 4).

Μονάδες 13

		Δεύτερο γράμμα				
		U	C	A	G	
Πρώτο γράμμα	U	UUU } φαινυλαλανίνη	UCU }	UAU } τυροσίνη	UGU } κυστεΐνη	U C A G
		UUC } (phe)	UCC }	UAC } (tyr)	UGC } (cys)	
		UUA } λευκίνη	UCA }	UAA } λήξη	UGA } λήξη	
		UUG } (leu)	UCG }	UAG } λήξη	UGG } τρυπτοφάνη (trp)	
	C	CUU }	CCU }	CAU } ιστιδίνη	CGU }	U C A G
		CUC }	CCC } προλίνη	CAC } (his)	CGC }	
		CUA } λευκίνη (leu)	CCA }	CAA } γλουταμίνη	CGA }	
		CUG }	CCG }	CAG } (gln)	CGG }	
	A	AUU } ισολευκίνη	ACU }	AAU } ασπαργίνη	AGU } σερίνη	U C A G
		AUC } (ile)	ACC }	AAC } (asp)	AGC } (ser)	
		AUA }	ACA } θρεονίνη (thr)	AAA } λυσίνη	AGA }	
		AUG } μεθειονίνη (met) έναρξη	ACG }	AAG } (lys)	AGG } (arg)	
	G	GUU }	GCU }	GAU } ασπαρτικό οξύ	GGU }	U C A G
		GUC }	GCC } αλανίνη (ala)	GAC } (asp)	GGC }	
		GUA } βαλίνη (val)	GCA }	GAA } γλουταμικό οξύ	GGA } γλυκίνη (gly)	
		GUG }	GCG }	GAG } (glu)	GGG }	

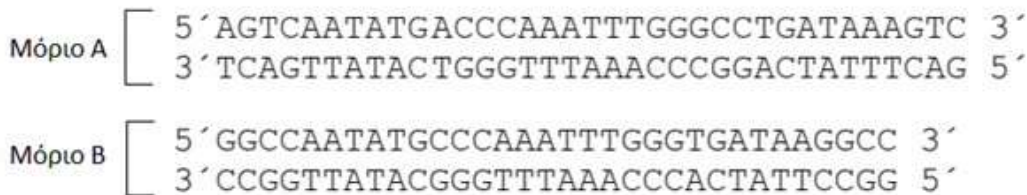
α. Διαβάζουμε με βήμα τριπλέτας την κωδική αλυσίδα, με όλα τα πιθανά πλαίσια ανάγνωσης, δηλαδή ξεκινώντας από το πρώτο νουκλεοτίδιο, με βάση T, μετά από το 2ο με βάση G και στη συνέχεια από το 3ο νουκλεοτίδιο με βάση A. Το σωστό πλαίσιο ανάγνωσης είναι το 3ο γιατί με το 1ο δημιουργείται αμέσως κωδικόνιο λήξης 5' TGA 3', ενώ το 2ο πλαίσιο ανάγνωσης δεν περιέχει κωδικόνιο λήξης στην 6η θέση, ούτε το σωστό κωδικόνιο 5' GCC 3' της αλανίνης. Συνεπώς, τα 6 κωδικόνια της κωδικής αλυσίδας είναι τα: 5' AAC, GGA, GCC, TAC, CCA 3' και το κωδικόνιο λήξης 5' TAG 3'.

β. Πριν το tRNA που μεταφέρει την αλανίνη εγκαταλείψει την πρώτη θέση εισδοχής του ριβοσώματος, στη δεύτερη θέση εισδοχής στο ριβόσωμα έχει προσδεθεί το επόμενο tRNA με αντικωδικόνιο συμπληρωματικό του κωδικονίου 5' UAC 3' που μεταφέρει το αμινοξύ τυροσίνη. Έτσι, δημιουργείται πεπτιδικός δεσμός μεταξύ της καρβοξυλομάδας (-COOH) της αλανίνης και της αμινομάδας (-NH₂) της τυροσίνης.

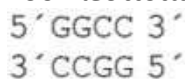
γ. Όταν το tRNA της αλανίνης εγκαταλείπει το ριβόσωμα, το ριβόσωμα μετακινείται προς το 3'

άκρο του mRNA. Έτσι, το tRNA που είναι συνδεδεμένο με την τυροσίνη και μέσω αυτής με την ήδη αναπτυσσόμενη πεπτιδική αλυσίδα, μετακινείται από την δεύτερη θέση εισδοχής στην πρώτη, αφήνοντας τη δεύτερη θέση ελεύθερη για να προσδεθεί το επόμενο tRNA με αντικωδικόνιο συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο με το κωδικόνιο 5' CCA 3', δηλαδή το 3' GGU 5', που μεταφέρει το αμινοξύ προλίνη.

90. 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. Τα παρακάτω δίκλιωνα τμήματα DNA A και B απομονώθηκαν από ένα στέλεχος ιού και αντιστοιχούν σε μικρά συνεχή γονίδια που κωδικοποιούν σημαντικά πεπτίδια του καψιδίου του ιού.



Μια περιοριστική ενδονουκλεάση, που απομονώθηκε από βακτήριο, αναγνωρίζει την παρακάτω δίκλιωνα αλληλουχία 4 ζευγών νουκλεοτιδίων, την οποία κόβει μεταξύ των δύο διαδοχικών νουκλεοτιδίων με βάση G:



α. Ποιο από τα παραπάνω γονίδια θεωρείτε ότι μπορεί να περιλαμβάνεται αυτούσιο σε γονιδιωματική βιβλιοθήκη του ιού αυτού που κατασκευάστηκε με τη χρήση της παραπάνω περιοριστικής ενδονουκλεάσης (μονάδες 2); Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας υποδεικνύοντας την κωδική αλυσίδα κάθε γονιδίου (μονάδες 3).

β. Να υπολογίσετε τον αριθμό των δεσμών υδρογόνου που διασπώνται σε κάθε θέση αναγνώρισης από την περιοριστική ενδονουκλεάση (μονάδες 3).

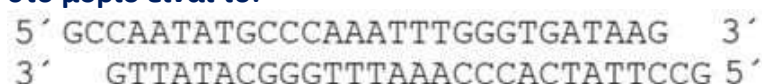
γ. Το/τα τμήματα DNA που προέκυψαν μετά τη δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης ενσωματώνεται σε πλασμίδιο ώστε να κλωνοποιηθεί. Να γράψετε το ή τα τμήμα/τα DNA με τα μονόκλιωνα άκρα του/τους, μετά την δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης (μονάδες 3), καθώς και τα συμπληρωματικά άκρα του πλασμιδίου μετά την δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης, ώστε το γονίδιο του ιού να μπορεί να το ανασυνδυάσει (μονάδες 2).

Μονάδες 13

α. Το γονίδιο B, είναι αυτό που θα περιλαμβάνεται αυτούσιο στη γονιδιωματική βιβλιοθήκη αφού κοπεί με την συγκεκριμένη περιοριστική ενδονουκλεάση. Στο γονίδιο αυτό, που έχει ως κωδική την πάνω αλυσίδα, η περιοριστική ενδονουκλεάση αναγνωρίζει την ειδική αλληλουχία των 4 ζευγών νουκλεοτιδίων στα δύο άκρα του γονιδίου, ενώ δεν κόβει στο εσωτερικό του. Στο γονίδιο A, η κωδική αλυσίδα είναι η πάνω και δεν θα περιλαμβάνεται αυτούσιο στη βιβλιοθήκη, καθώς δεν υπάρχουν οι αλληλουχίες νουκλεοτιδίων που αναγνωρίζονται από τη συγκεκριμένη περιοριστική ενδονουκλεάση και στα δύο άκρα του, ενώ, αντίθετα, υπάρχει η αλληλουχία αναγνώρισης εντός του γονιδίου.

β. Οι δεσμοί υδρογόνου που διασπώνται στην κάθε θέση αναγνώρισης είναι 6 (= 2 ζεύγη C- G x 3).

γ. Το τμήμα DNA, που περιέχει το γονίδιο, μετά την δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης στο μόριο είναι το:

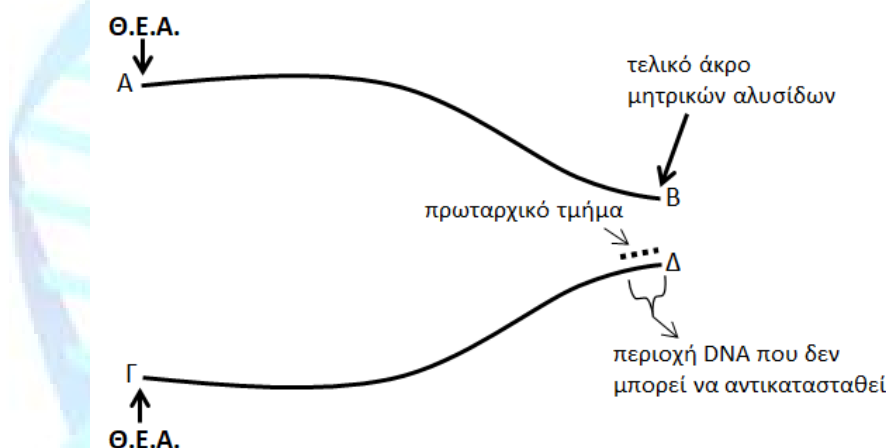


Τα συμπληρωματικά άκρα του πλασμιδίου μετά την δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης είναι:



92. Στα περισσότερα ευκαρυωτικά κύτταρα, τα χρωμοσώματα του πυρήνα δεν φέρουν στα άκρα τους γονίδια ή αλληλουχίες ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης, αλλά μικρές αλληλουχίες (π.χ. TTAGGG) που επαναλαμβάνονται εκατοντάδες ή χιλιάδες φορές, γνωστές ως τελομερή. Τα τελομερή λειτουργούν ως ένα «κάλυμμα» που προστατεύει τις εσωτερικές περιοχές (και τα γονίδια) των χρωμοσωμάτων, καθώς μετά από κάθε κύκλο αντιγραφής παρατηρείται μια μικρή βράχυνση των άκρων των χρωμοσωμάτων επειδή δεν μπορούν να αντικατασταθούν τα ακριανά πρωταρχικά τμήματα των ασυνεχών τμημάτων. Έτσι, παράγονται μόρια DNA με ανομοιόμορφα άκρα και μικρότερο μήκος. Ορισμένοι ερευνητές θεωρούν ότι η βράχυνση των τελομερών συνδέεται με τη γήρανση ορισμένων ιστών.

α. Στο παρακάτω σχήμα απεικονίζεται η διχάλα αντιγραφής του ακραίου τμήματος ενός γραμμικού μορίου DNA, στο οποίο σημειώνεται η θέση έναρξης της αντιγραφής (Θ.Ε.Α.), τα τελικά άκρα των μητρικών αλυσίδων DNA, καθώς και η θέση του τελευταίου πρωταρχικού τμήματος που σχηματίζεται κατά την διαδικασία αυτή. Να τοποθετήσετε στις θέσεις Α, Β, Γ και Δ τις κατευθύνσεις των μητρικών αλυσίδων (μονάδες 2), αιτιολογώντας την απάντησή σας (μονάδες 3).



β. Να σχεδιάσετε μέσα στη διχάλα αντιγραφής τα τμήματα DNA (με τη κατεύθυνσή τους) που θα συντεθούν κατά τη διαδικασία της αντιγραφής, δείχνοντας με διακεκομμένη γραμμή τη θέση των πρωταρχικών τμημάτων, αν γνωρίζετε ότι δημιουργούνται συνολικά τέσσερα πρωταρχικά τμήματα (μονάδες 4).

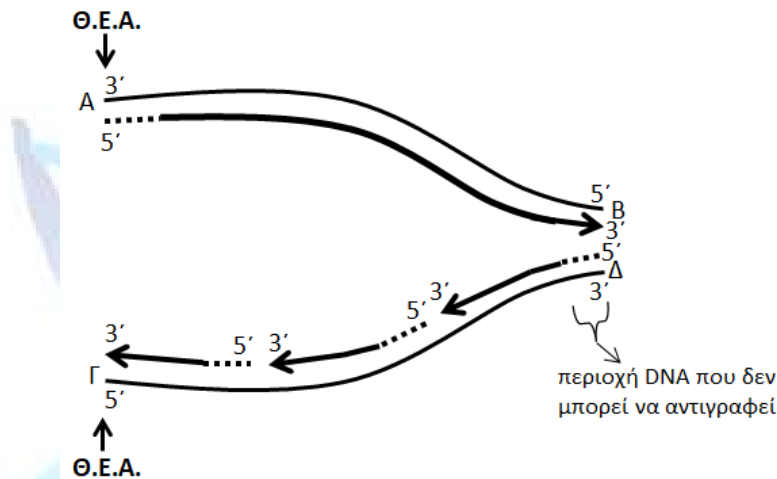
γ. Να εξηγήσετε γιατί το πρωταρχικό τμήμα που εντοπίζεται στη περιοχή που υποδεικνύεται στο σχήμα δεν μπορεί να αντικατασταθεί και να αντιγραφεί με αποτέλεσμα το ένα από τα δύο θυγατρικά μόρια που θα σχηματιστούν θα φέρει ανομοιόμορφα άκρα (μονάδες 4).

Μονάδες 13

α. Σε αυτή τη διχάλα αντιγραφής, η κατεύθυνση της αντιγραφής θα είναι προς το τελικό άκρο των μητρικών αλυσίδων, δηλαδή προς τα άκρα Β και Δ. Επειδή στη μητρική αλυσίδα ΓΔ σχηματίζεται το τελευταίο πρωταρχικό τμήμα, που βρίσκεται στο Δ (και μακριά από τη Θ.Ε.Α.), η αλυσίδα αυτή θα αντιγράφεται με ασυνεχή τρόπο, καθώς θα σχηματιστούν πολλά κομμάτια DNA που το καθένα θα έχει το δικό του πρωταρχικό τμήμα. Αντίθετα, στην αλυσίδα που αντιγράφεται με συνεχή τρόπο, δηλαδή στην ΑΒ, θα σχηματιστεί μόνο ένα πρωταρχικό τμήμα δίπλα στη Θ.Ε.Α. Εφόσον κάθε νεοσυντιθέμενη αλυσίδα έχει προσανατολισμό 5' → 3' λόγω της καθορισμένης κατεύθυνσης που δρουν οι DNA πολυμεράσες (τοποθετούν νουκλεοτίδια στο

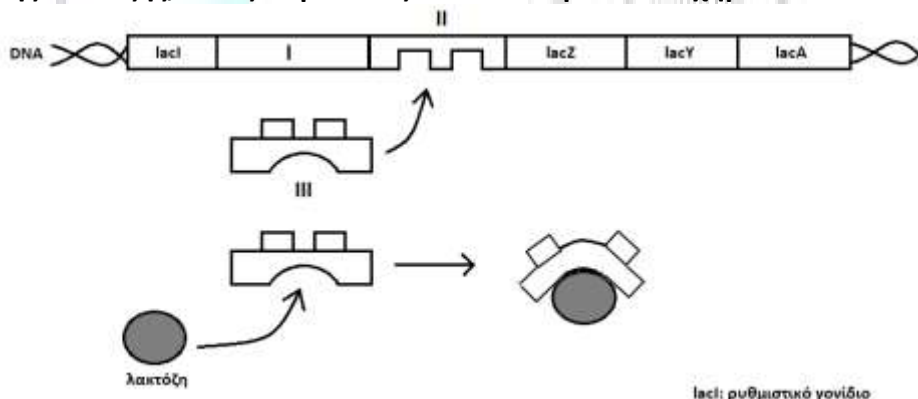
ελεύθερο 3' άκρο της δεοξυριβόζης του τελευταίου νουκλεοτιδίου) και είναι αντιπαράλληλη ως προς την αντίστοιχη μητρική αλυσίδα, οι κατευθύνσεις των μητρικών αλυσίδων θα είναι: A: 3', B: 5', Γ: 5' και Δ: 3'.

β. Εφόσον σχηματίζονται συνολικά τέσσερα πρωταρχικά τμήμα, το ένα θα βρίσκεται στην αρχή της συνεχούς αλυσίδας. Άρα, τα υπόλοιπα τρία πρωταρχικά τμήματα θα βρίσκονται στην αρχή των τμημάτων DNA που θα συντεθούν κατά την αντιγραφή της αλυσίδας που αντιγράφεται με ασυνεχή τρόπο.



γ. Οι DNA πολυμεράσες είναι τα κύρια ένζυμα που συμμετέχουν στην αντιγραφή του DNA. Μια από τις λειτουργίες τους είναι να επιμηκύνουν τα πρωταρχικά τμήματα τοποθετώντας συμπληρωματικά δεοξυριβονουκλεοτίδια με καθορισμένη κατεύθυνση (στο 3' άκρο προϋπάρχουσας αλυσίδας). Δηλαδή, τα ένζυμα αυτά δεν έχουν την ικανότητα να αρχίζουν την αντιγραφή από μόνα τους. Ταυτόχρονα, τα ένζυμα αυτά απομακρύνουν τα πρωταρχικά τμήματα RNA και τα αντικαθιστούν με τμήματα DNA. Στην περιοχή που σημειώνεται στο σχήμα εντοπίζεται το τελευταίο πρωταρχικό τμήμα που σχηματίζεται. Αυτό όμως δεν μπορεί να αντικατασταθεί με DNA επειδή δεν υπάρχει άλλο διαθέσιμο 3' άκρο για να δράσει η DNA πολυμεράση. Άρα, η αλληλουχία αυτή θα «χαθεί» και το νέο μόριο DNA που θα σχηματιστεί θα φέρει ανομοιόμορφα άκρα.

93. Στο παχύ έντερο του ανθρώπου, τα βακτήρια *Escherichia coli* που ζουν εκεί συντονίζουν το μεταβολισμό τους ανάλογα με τις διατροφικές συνήθειες του ξενιστή τους. Αν για παράδειγμα, ο ξενιστής πίνει συστηματικά γάλα, τα βακτήρια εκτίθενται σε περιβάλλον πλούσιο σε λακτόζη και παράγουν μεγάλο αριθμό μορίων β-γαλακτοσιδάσης, ενός ενζύμου που υδρολύει τη λακτόζη. Το γονίδιο της β-γαλακτοσιδάσης (*lacZ*), μαζί με άλλα δύο γονίδια (*lacY*, *lacA*) των οποίων τα προϊόντα εμπλέκονται στο μεταβολισμό της λακτόζης, αποτελεί μέρος του οπερονίου της λακτόζης, όπως παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα.



α. Να ονομάσετε τις δομές I, II και III που απεικονίζονται στο σχήμα (μονάδες 3). Να εξηγήσετε πώς επηρεάζεται η λειτουργία της δομής III όταν στο περιβάλλον του βακτηρίου υπάρχει μόνο λακτόζη (μονάδες 3).

β. Να εξηγήσετε αν θα παραχθεί β-γαλακτοσιδάση σε ένα βακτήριο που φέρει μια μετάλλαξη που προκαλεί απώλεια της φυσιολογικής λειτουργίας α) της δομής I και β) της δομής II, όταν ο ξενιστής του βακτηρίου αυτού έχει καταναλώσει γάλα (μονάδες 6).

Μονάδες 12

α. Οι δομές που απεικονίζονται στο σχήμα είναι: I-υποκινητής (των δομικών γονιδίων), II-χειριστής και III-πρωτεΐνη καταστολέας. Όταν στο περιβάλλον του βακτηρίου υπάρχει λακτόζη, η λακτόζη συνδέεται στη πρωτεΐνη-καταστολέα. Η σύνδεσή αυτή προκαλεί αλλαγή στη τρισδιάστατη δομή της πρωτεΐνης-καταστολέα με αποτέλεσμα η πρωτεΐνη αυτή να μην μπορεί πλέον να προσδεθεί στο χειριστή.

β. Στη δομή I, δηλαδή στον υποκινητή, προσδένεται φυσιολογικά η RNA πολυμεράση για να ξεκινήσει τη διαδικασία της μεταγραφής των δομικών γονιδίων. Εάν συμβεί μετάλλαξη που δεν θα επιτρέπει τη πρόσδεση της RNA πολυμεράσης, τότε δεν θα μπορεί να γίνει μεταγραφή των δομικών γονιδίων (παρουσία ή απουσία λακτόζης). Αν, λοιπόν, ο ξενιστής έχει καταναλώσει γάλα, δηλαδή στο περιβάλλον του βακτηρίου υπάρχει λακτόζη, το βακτήριο αυτό δεν θα μπορεί να παράγει β-γαλακτοσιδάση εφόσον δεν γίνεται μεταγραφή των δομικών γονιδίων.

Στη δομή II, δηλαδή στον χειριστή, συνδέεται φυσιολογικά η πρωτεΐνη-καταστολέας όταν απουσιάζει από το περιβάλλον του βακτηρίου λακτόζη. Μετάλλαξη στο χειριστή που δεν θα επιτρέπει τη σύνδεση της πρωτεΐνης-καταστολέα σημαίνει τη συνεχή μεταγραφή των δομικών γονιδίων, ανεξάρτητα από τη παρουσία ή όχι λακτόζης. Άρα, στη συγκεκριμένη περίπτωση θα παραχθεί β-γαλακτοσιδάση.

95. Το *Thermus aquaticus* είναι ένα θερμόφιλο βακτήριο που αναπτύσσεται κοντά σε θερμοπηγές, όπου η θερμοκρασία είναι πολύ υψηλή, γύρω στους 60-70⁰ C, αλλά μπορεί να αντέξει και σε θερμοκρασίες της τάξης των 80⁰ C. Από το βακτήριο αυτό απομονώνεται μια ειδική θερμοανθεκτική DNA πολυμεράση, που είναι γνωστή ως Taq DNA πολυμεράση. Το ένζυμο αυτό διατηρεί τη λειτουργικότητά του ακόμα και σε θερμοκρασίες που φτάνουν τους 95⁰ C.

α. Να ονομάσετε δύο βασικά ένζυμα που καταλύουν *in vivo* τη δημιουργία φωσφοδιεστερικού δεσμού μεταξύ δεοξυριβονουκλεοτιδίων κατά την αντιγραφή του DNA (μονάδες 4) και να εξηγήσετε αν τα ένζυμα αυτά διαθέτουν την ικανότητα να καταλύουν και άλλο είδος αντίδρασης εκτός της αναφερόμενης (μονάδες 2).

β. Με δεδομένο ότι η τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) στηρίζεται σε επαναλαμβανόμενους κύκλους *in vitro* αποδιάταξης, υβριδοποίησης και επιμήκυνσης του DNA, οι οποίες απαιτούν υψηλές θερμοκρασίες (περίπου 95⁰ C, 45-60⁰ C και 70⁰ C, αντίστοιχα), να εξηγήσετε για ποιο λόγο πιστεύετε ότι για την *in vitro* αντιγραφή τμημάτων DNA που πραγματοποιείται με την τεχνική της PCR, χρειάζεται να χρησιμοποιήσουμε το ένζυμο Taq πολυμεράση, που απομονώνεται από τα θερμόφιλα αυτά βακτήρια (μονάδες 6).

Μονάδες 12

Δύο βασικά ένζυμα που καταλύουν *in vivo* τη δημιουργία 3'-5' φωσφοδιεστερικού δεσμού μεταξύ δεοξυριβονουκλεοτιδίων κατά την αντιγραφή του DNA είναι η DNA πολυμεράση και η DNA δεσμάση (εναλλακτικά: τα επιδιορθωτικά ένζυμα). Η DNA πολυμεράση επιμηκώνει τα πρωταρχικά τμήματα συνθέτοντας ουσιαστικά τους νέους κλώνους του DNA (και αντικαθιστά τα ριβονουκλεοτίδια των πρωταρχικών τμημάτων ή τα λάθη που η ίδια έκανε κατά την τοποθέτηση των δεοξυριβονουκλεοτιδίων), ενώ η DNA δεσμάση καταλύει τη δημιουργία φωσφοδι-

εστερικών δεσμών, τόσο μεταξύ των νεοσυντιθέμενων τμημάτων που προκύπτουν με ασυνεχή σύνθεση, όσο και μεταξύ των τμημάτων στις διαδοχικές θέσεις έναρξης της αντιγραφής. Η DNA πολυμεράση και τα επιδιορθωτικά ένζυμα έχουν την δυνατότητα και να διασπούν φωσφοδιεστερικούς δεσμούς.

β. Είναι γνωστό ότι κάθε ένζυμο είναι (σχεδόν πάντα) μια πρωτεΐνη η οποία καταλύει μια συγκεκριμένη αντίδραση. Η δραστηριότητα των ενζύμων επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες. Σ' αυτούς ανήκουν η θερμοκρασία, το pH κ.ά. Η DNA πολυμεράση που χρησιμοποιείται στην τεχνική PCR οφείλει να είναι θερμοανθεκτική, αφού οι απαραίτητες διαδικασίες που εκτυλίσσονται σε κάθε κύκλο της διαδικασίας (ιδίως η αποδιάταξη, αφού η επιμήκυνση γίνεται σε υψηλή θερμοκρασία λόγω της ίδιας της χρήσης του ενζύμου), απαιτούν θερμοκρασίες πολύ υψηλότερες από τις φυσιολογικές θερμοκρασίες δράσης των ενζύμων των περισσότερων ζωικών και φυτικών οργανισμών. Οποιαδήποτε, λοιπόν, άλλη DNA πολυμεράση δεν θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στην τεχνική PCR, αφού θα μετουσιωνόταν. Αντίθετα, η Taq πολυμεράση μπορεί να δράσει σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες, ιδιότητα που την καθιστά ιδανική για διαδικασίες όπως η PCR.

100. Τα διαγονιδιακά ζώα παράγονται από την στοχευμένη εισαγωγή ξένου DNA στο γονιδίωμα ενός ζώου δέκτη και συγκεκριμένα στο ζυγωτό αυτού. Αυτό αποσκοπεί στη μεταβίβαση του ξένου DNA σε όλα τα κύτταρα του νέου οργανισμού, προκειμένου κάθε κύτταρο να περιέχει το ίδιο τροποποιημένο γενετικό υλικό, και διαμέσου των γεννητικών κυττάρων του να κληρονομηθεί στις επόμενες γενιές. Ένα από τα είδη που τροποποιούνται γενετικά συχνότερα, στα πλαίσια παραγωγής διαγονιδιακών ζώων, είναι η κασίκα. Στα κύτταρα του μαστικού αδένου της κασίκας υπάρχει ένας συγκεκριμένος κυτταρικός τύπος, όπου σε κάποιο από τα 28 χρωμοσώματα του είδους, εντοπίζεται και εκφράζεται το γονίδιο της καζεΐνης, μιας πρωτεΐνης του γάλακτος. Ο στόχος είναι τα διαγονιδιακά ζώα του συγκεκριμένου είδους να παράγουν την πρωτεΐνη α1-αντιθρυψίνη στο γάλα τους. Προς τούτο, στο γενετικό υλικό ζυγωτού κασίκας, ενσωματώνεται με σύγχρονες τεχνικές μέσα στο γονίδιο της καζεΐνης, αμέσως μετά τον υποκινητή του, με κατάλληλο προσανατολισμό, το γονίδιο της ανθρώπινης α1-αντιθρυψίνης μόνο σε ένα αντίγραφο. Παράλληλα, η ίδια διαδικασία ακολουθείται και σε ζυγωτό τράγου όπου μέσα στο γονίδιο της καζεΐνης με κατάλληλο προσανατολισμό, ενσωματώνεται το γονίδιο της ανθρώπινης α1-αντιθρυψίνης μόνο σε ένα αντίγραφο.

α. Να εξηγήσετε πως η θέση και ο προσανατολισμός ενσωμάτωσης του γονιδίου της α1-αντιθρυψίνης θα καθορίσουν την έκφρασή του στα κύτταρα του μαστικού αδένου (μονάδες 6). β. Να βρείτε την πιθανότητα να γεννηθεί, από τη διασταύρωση των παραπάνω ζώων, άτομο ομόζυγο ως προς το γονίδιο της α1-αντιθρυψίνης που να παράγει επίσης την πρωτεΐνη αυτή στο γάλα του (μονάδες 7).

Μονάδες 13

α. Ο υποκινητής της καζεΐνης στα κύτταρα του μαστικού αδένου είναι ενεργός. Δηλαδή προσδέονται σε αυτόν ο σωστός συνδυασμός μεταγραφικών παραγόντων και επιτρέπουν στην RNA πολυμεράση την μεταγραφή του γονιδίου μετά από αυτόν. Επομένως, εφόσον το γονίδιο της ανθρώπινης α1-αντιθρυψίνης ενσωματώνεται μετά τον υποκινητή της καζεΐνης, με τον σωστό προσανατολισμό, μεταγράφεται. Στη συνέχεια, η μετάφραση του θα πραγματοποιηθεί όπως ακριβώς θα γινόταν και στα κύτταρα του ανθρώπου, λόγω της καθολικότητας του γενετικού κώδικα και λόγω της ύπαρξης ριβοσωμάτων και κατάλληλων μηχανισμών μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων που διαθέτουν τα ευκαρυωτικά κύτταρα. Επομένως, το γονίδιο της ανθρώπινης α1-αντιθρυψίνης θα εκφραστεί στα κύτταρα του μαστικού αδένου της κασίκας. β. Η διαγονιδιακή κασίκα θα έχει γονότυπο A-. Το ίδιο και ο διαγονιδιακός τράγος. Η διασταύρωση

τους είναι:

P (γονότυποι): A- x A-

Γαμέτες: A, - / A, -

(1^{ος} Νόμος Μέντελ)

F1: AA, A-, A-, --

Η πιθανότητα να γεννηθεί ένα ομόζυγο άτομο ως προς το γονίδιο της α1-αντιθρυψίνης είναι 1/4.

Ωστόσο, για να παράγει την α1-αντιθρυψίνη στο γάλα θα πρέπει να είναι θηλυκό (1/2). Επομένως, η πιθανότητα να γεννηθεί ομόζυγο θηλυκό ζώο είναι $1/4 \times 1/2 = 1/8$.

102. Περίπου το 10% των περιπτώσεων καρκίνου οφείλονται στη μετάλλαξη ενός γονιδίου, η οποία έχει κληρονομηθεί. Από τις πιο συχνές μορφές καρκίνου, που παρουσιάζουν κληρονομική προδιάθεση είναι ο οικογενής καρκίνος του μαστού και των ωοθηκών. Ο κληρονομικός αυτός καρκίνος οφείλεται κατά κύριο λόγο σε μεταλλάξεις των γονιδίων BRCA1 και BRCA2. Στην Εικόνα 1 απεικονίζεται ένα τμήμα DNA, του γονιδίου BRCA1. Στο τμήμα αυτό φαίνονται τα πρώτα νουκλεοτίδια της κωδικής αλυσίδας, μέρος του 1ου εξωνίου, ακολουθεί (στις αγκύλες) το 1ο εσώνιο, μέρος του 2ου εξωνίου, το 2ο εσώνιο (στις αγκύλες) κ.ο.κ.

5'...CGGAACCATCATGGAATTCAC....[.....]...AACGCTTAACTAGTG...[.....]

Τμήμα 1ου εξωνίου

1ο εσώνιο

Τμήμα 2ου εξωνίου

2ο εσώνιο

Εικόνα 1

α. Να γράψετε τις τριπλέτες που αποτελούν το πρώτο και το δεύτερο κωδικόνιο του 2ου εξωνίου που παρατίθεται παραπάνω και να αιτιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 6).

β. Μια μετάλλαξη που προκλήθηκε στο γονίδιο BRCA1, είχε σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός καινούργιου αλληλομόρφου. Γνωρίζοντας ότι ο ανιχνευτής 3' AGTACATTAAG 5' υβριδοποιείται με την κωδική αλυσίδα του μεταλλαγμένου αλληλομόρφου, να εξηγήσετε το είδος της μετάλλαξης που συνέβη, καθώς και την επίπτωσή της στο γονιδιακό προϊόν (μονάδες 3). Κύτταρα που είναι ομόζυγα, ως προς αυτή τη μετάλλαξη, μετατρέπονται σε καρκινικά. Να εξηγήσετε, με βάση αυτή την παρατήρηση, αν το BRCA1 είναι ογκογονίδιο ή ογκοκατασταλτικό γονίδιο (μονάδες 4).

Μονάδες 13

α. Εφόσον δίνεται δεύτερο εσώνιο θα ακολουθεί και τρίτο εξώνιο. Επομένως, στη διερεύνηση του βήματος των τριπλετών του δεύτερου εξωνίου δεν θα πρέπει να εμφανίζεται κωδικόνιο λήξης. Από τη διερεύνηση της αλληλουχίας του τμήματος του δεύτερου εξωνίου που δίνεται, προκύπτει ότι η μόνη λύση που ικανοποιεί την παραπάνω συνθήκη είναι η:

5'...AA/CGC/TTA/ACT/AGT/G...3'

Άρα τα ζητούμενα κωδικώνια είναι: 5'CGC3', 5'TTA3'.

β. Το μόριο ανιχνευτής υβριδοποιείται με την αλληλουχία του μεταλλαγμένου αλληλομόρφου:

5'TCATGTAATTC...3'

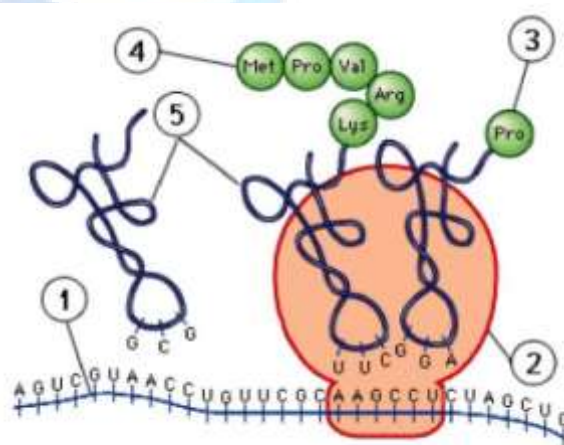
3'AGTACATTAAG5'

Συγκρίνοντας το φυσιολογικό αλληλόμορφο με το μεταλλαγμένο παρατηρούμε ότι αυτά διαφέρουν κατά ένα νουκλεοτίδιο. Το πρώτο νουκλεοτίδιο του δεύτερου κωδικονίου στο φυσιολογικό αλληλόμορφο έχει ως βάση G, ενώ στο μεταλλαγμένο υπάρχει T. Επομένως, έχει γίνει μετάλλαξη αντικατάστασης ενός νουκλεοτιδίου (το ζευγος T-A έχει αντικαταστήσει το ζεύγος G-C στην κωδική και μη κωδική αντίστοιχα). Αποτέλεσμα αυτής της μετάλλαξης είναι το κωδικόνιο GAA να μετατρέπεται σε TAA, επιφέροντας πρόωρη λήξη στη μετάφραση της πρωτεΐνης του γονιδίου BRCA1, αμέσως μετά την έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης. Επομένως, το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο του BRCA1 δεν καταλήγει σε παραγωγή πρωτεΐνης. Το φυσιολογικό αλληλόμορφο BRCA1 πριν τη μετάλλαξη έλεγχε τον κυτταρικό κύκλο, διακόπτοντάς τον όταν αυτό απαιτείτο. Έτσι, η μετάλλαξή του, που είναι υπολειπόμενη, οδηγεί σε ένα γονίδιο που το προϊόν του δεν είναι λειτουργικό, δηλαδή παύει να σταματά τον κυτταρικό κύκλο. Άρα, το συγκεκριμένο γονίδιο σε ομοζυγωτία επάγει τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και οδηγεί σε καρκίνο. Συνεπώς, πρόκειται για ογκοκατασταλτικό γονίδιο.

104. Στην παρακείμενη εικόνα απεικονίζεται μια βιολογική διαδικασία σε ένα κύτταρο. Για την πραγματοποίηση της συμμετέχουν πέντε διαφορετικά μόρια ή δομές (1-5).

α. Να ονομάσετε την βιολογική διαδικασία που παρατηρείτε (μονάδα 1). Να γράψετε τα μόρια ή τις δομές στα/στις οποία/οποίες αντιστοιχούν οι αριθμοί 1 έως 5 (μονάδες 5).

β. Να αναλύσετε ποια βήματα της γονιδιακής έκφρασης απαιτούνται συνολικά για την δημιουργία του μορίου 2 (μονάδες 5) και να γράψετε το επόμενο αντικωδικόνιο που θα τοποθετηθεί στη δεύτερη θέση του ριβοσώματος με βάση την εικόνα (μονάδες 2).



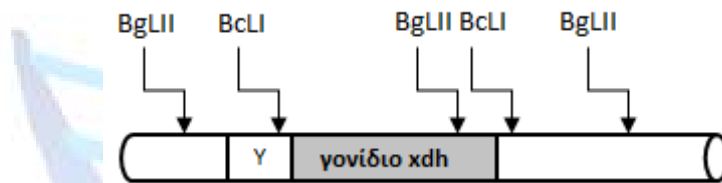
Μονάδες 13

α. Η βιολογική διαδικασία αναφέρεται στην μετάφραση (του mRNA) ή πρωτεϊνοσύνθεση.

- mRNA
- ριβόσωμα
- αμινοξύ
- (αναπτυσσόμενη) πεπτιδική αλυσίδα ή πρωτεΐνη
- tRNA

β. Το μόριο 2 αποτελεί ένα ριβόσωμα. Τα βήματα της γονιδιακής έκφρασης που απαιτούνται για την δημιουργία του μορίου 2 είναι τα εξής: Ένα γονίδιο που κωδικοποιεί για ένα είδος rRNA της μικρής ή της μεγάλης υπομονάδας θα μεταγραφεί (στην περιοχή του πυρήνικου του πυρήνα). Γονίδια που κωδικοποιούν για τις πρωτεΐνες της ίδιας υπομονάδας θα μεταγραφούν σε mRNA, τα οποία, αφού ωριμάσουν από μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια του πυρήνα θα οδηγηθούν στα ριβοσώματα (του κυτταροπλάσματος και κατόπιν του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου) όπου θα μεταφραστούν. Θα ακολουθήσει κατασκευή της υπομονάδας, δηλαδή σύνδεση rRNA και πρωτεϊνών (εντός του πυρήνα). Τα αντίστοιχα θα πραγματοποιηθούν και για την άλλη υπομονάδα του ριβοσώματος. Οι δύο υπομονάδες θα συναρμολογηθούν σε ολόκληρο ριβόσωμα μόνο κατά τη μετάφραση, στο κυτταρόπλασμα. Το επόμενο κωδικόνιο που θα μεταφραστεί είναι το 5'CUA3', άρα το αντικωδικόνιο του tRNA που θα τοποθετηθεί θα είναι το 3'GAU5'

106. Το αμφίβιο *Litoria caerulea* (πράσινος δενδροβάτραχος) είναι ευρέως διαδεδομένο στις ανατολικές περιοχές της Αυστραλίας και στη νότια Νέα Γουινέα. Το χρώμα του, που εξαρτάται από την θερμοκρασία και τους χρωματισμούς του περιβάλλοντος, κυμαίνεται από καφέ έως πράσινο. Στόχος μας είναι η μελέτη του γονιδίου *xch* που είναι υπεύθυνο για τον χρωματισμό του δέρματος του αμφιβίου. Στην παρακάτω εικόνα αναπαρίσταται το τμήμα του DNA που περιέχει το γονίδιο *xch* και οι θέσεις αναγνώρισης από διαφορετικές περιοριστικές ενδονουκλεάσες.



α. Να γράψετε την περιοριστική ενδονουκλεάση που θεωρείτε ιδανικότερη για την απομόνωση του συγκεκριμένου γονιδίου (μονάδα 1) και να δικαιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 3). Να αναφέρετε δύο λειτουργικές διαφορές μεταξύ των προαναφερόμενων ενζύμων (μονάδες 2).

β. Εισάγουμε το γονίδιο *xch* από το αμφίβιο σε ένα πλασμίδιο φορέα που επιτρέπει την έκφραση του στο βακτήριο. Θα προτιμούσατε να εισάγετε το γονίδιο με τον δικό του υποκινητή (Υ) ή να εισάγετε το γονίδιο δίπλα σε υποκινητή ενός γονιδίου του πλασμιδίου που εκφράζεται σε οποιοδήποτε συνθήκες (μονάδες 3); Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 4).

Μονάδες 13

α. Η περιοριστική ενδονουκλεάση που είναι ιδανικότερη για την απομόνωση του συγκεκριμένου γονιδίου είναι η BclI, καθώς μεταξύ των δύο θέσεων που αναγνωρίζει περιέχεται ολόκληρο το γονίδιο. Το ένζυμο BglII διασπά φωσφοδιεστερικούς δεσμούς στις τελικές αλληλουχίες του γονιδίου με αποτέλεσμα να το καταστρέψει. Λειτουργικές διαφορές των περιοριστικών ενδονουκλεασών μπορεί να είναι ότι:

- αναγνωρίζουν διαφορετικές ειδικές αλληλουχίες νουκλεοτιδίων στο δίκλωνο μόριο DNA,
- αναγνωρίζουν διαφορετικό μήκος (4-8) ζευγών νουκλεοτιδίων.

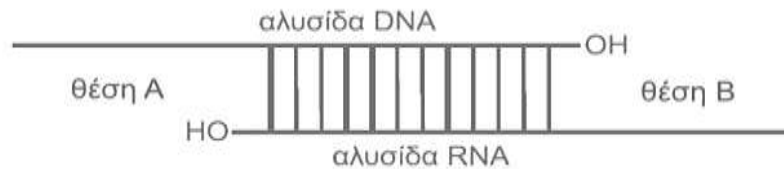
Εναλλακτικά:

- ο αριθμός δεσμών υδρογόνου που διασπώνται κατά την δράση των ενζύμων είναι διαφορετικός.

β. Για την έκφραση του γονιδίου συνιστάται ο υποκινητής του πλασμιδίου. Ο μηχανισμός της μεταγραφής είναι ο ίδιος στους προκαρυωτικούς και ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Η RNA πολυμεράση, ως βασικό ένζυμο της μεταγραφής, λειτουργεί με βοήθεια πρωτεϊνών, που ονομάζονται μεταγραφικοί παράγοντες. Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς οι μεταγραφικοί παράγοντες παρουσιάζουν τεράστια ποικιλία σε σχέση με τους προκαρυωτικούς. Διαφορετικός συνδυασμός μεταγραφικών παραγόντων ρυθμίζει τη μεταγραφή κάθε γονιδίου. Αν ο υποκινητής προέρχεται από ευκαρυωτικό κύτταρο το βακτήριο δεν θα έχει τους κατάλληλους μεταγραφικούς παράγοντες και το εν λόγω γονίδιο, πιθανότατα, δεν θα εκφραστεί.

111. Κατά την αντιγραφή του DNA, οι DNA πολυμεράσες τοποθετούν συμπληρωματικά δεοξυριβονουκλεοτίδια απέναντι από τις μητρικές αλυσίδες του DNA, λειτουργώντας μόνο προς καθορισμένη κατεύθυνση. Παράλληλα, οι DNA πολυμεράσες μπορούν να συνθέτουν αλυσίδες DNA στο εργαστήριο, *in vitro*, εφόσον υπάρχουν οι κατάλληλες συνθήκες και όλα τα απαραίτητα

τα μόρια και υλικά. Στο παρακάτω σχήμα απεικονίζεται ένα υβριδικό μόριο DNA – RNA.



α. Να αναφέρετε τα ζεύγη συμπληρωματικών βάσεων μεταξύ των οποίων αναπτύσσονται δεσμοί υδρογόνου στο υβριδικό μόριο (μονάδες 2) και να εξηγήσετε σε ποια/ες βιολογική/ές διεργασία/ες που σχετίζονται με το γενετικό υλικό μπορεί να προκύψουν τέτοιου είδους υβριδικά μόρια τόσο *in vivo*, όσο και *in vitro* (μονάδες 4).

β. Αν σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα διαθέτετε τέτοιου είδους υβριδικά μόρια και όλες οι συνθήκες είναι κατάλληλες για τη σύνθεση πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας, να εξηγήσετε σε ποια/ες θέση/εις (A ή/και B) του σχήματος μπορεί να δράσει η DNA πολυμεράση επιμηκώνοντας την αλυσίδα, το άκρο της οποίας είναι μικρότερου μήκους (μονάδες 6).

Μονάδες 12

α. Με δεσμούς υδρογόνου συνδέονται δεοξυριβονουκλεοτίδια με βάσεις A, T, G, C με ριβονουκλεοτίδια με βάσεις U, A, C, G αντίστοιχα και αντίστροφα.

Υβριδικό μόριο RNA – DNA δημιουργείται:

-Κατά την αντιγραφή του DNA μεταξύ μητρικής αλυσίδας DNA και πρωταρχικού τμήματος RNA.

-Κατά τη μεταγραφή του DNA μεταξύ μεταγραφόμενης αλυσίδας DNA και του παραγόμενου RNA.

-Κατά την αντίστροφη μεταγραφή (*in vivo* ενός RNA ιού ή *in vitro* στα πλαίσια π.χ. cDNA βιβλιοθηκών).

-Κατά την ανίχνευση επιθυμητών μορίων - τμημάτων DNA ή RNA. Σε πολλές εργαστηριακές τεχνικές απαιτείται η χρήση μονόκλωνων ιχνηθετημένων ανιχνευτών DNA ή RNA, αντίστοιχα, οπότε μπορεί να προκύπτουν τέτοια υβριδικά μόρια.

β. Η DNA πολυμεράση μπορεί να δράσει μόνο στη θέση A, γιατί υπάρχει ελεύθερο 3' OH, για να δημιουργήσει 3'-5' φωσφοδιεστερικό δεσμό με τη φωσφορική ομάδα του επόμενου νουκλεοτιδίου και υπάρχει και αλυσίδα – καλούπι DNA. Αντίθετα στη θέση B δεν μπορεί να δράσει, διότι αν και υπάρχει ελεύθερο 3' OH για να δράσει η DNA πολυμεράση, η αλυσίδα - καλούπι που θα την καθοδηγεί είναι αλυσίδα RNA.

112. Οι δομικές αλλαγές στο χρωμόσωμα μπορεί να αφορούν μερικά γονίδια ή ένα μεγαλύτερο τμήμα του χρωμοσώματος. Η δημιουργία δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών είναι αποτέλεσμα διαφόρων μηχανισμών κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου.

α. Να αναφέρετε τα είδη των δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών στα οποία αλλάζει η ποσότητα της γενετικής πληροφορίας (μονάδες 2) και αυτά στα οποία αλλάζει η διάταξη της γενετικής πληροφορίας (μονάδες 3).

β. Στη συνέχεια παρατίθενται οι αμινοξικές αλληλουχίες δύο πεπτιδίων, που κωδικοποιούνται από δύο αλληλόμορφα γονίδια: του φυσιολογικού γονιδίου A (για το πεπτίδιο α) και του γονιδίου B (για το πεπτίδιο β) που προέκυψε από μεταλλάξεις του γονιδίου A.

πεπτίδιο α: H₂N-met-ala-val-leu-his-cys-asn-lys-pro-glu-met-thr-trp-COOH

πεπτίδιο β: H₂N-met-ala-val-leu-his-cys-gly-phe-ile-glu-met-thr-trp-COOH

Να γράψετε τις αλληλουχίες και των δύο αλυσίδων των γονιδίων A και B, από την έκφραση των οποίων προέκυψαν τα δύο πεπτίδια α και β (μονάδες 4), δηλώνοντας την κωδική και μη κωδική αλυσίδα (μονάδες 2).

γ. Να προσδιορίσετε το είδος της μετάλλαξης που συνέβη και προέκυψε το μεταλλαγμένο αλ-

Παρατίθεται τμήμα του γενετικού κώδικα:

ala	GCU	asn	AAU	cys	UGC	gly	GGG	glu	GAG
ile	AUU	his	CAU	leu	CUC	lys	AAA	met	AUG
pro	CCC	phe	UUU	thr	ACC	trp	UGG	val	GUG

α. Η ποσότητα της γενετικής πληροφορίας αλλάζει όταν υπάρχει έλλειψη ή διπλασιασμός χρωμοσωμικού τμήματος. Η διάταξη της γενετικής πληροφορίας αλλάζει όταν υπάρχει αναστροφή, μετατόπιση ή αμοιβαία μετατόπιση.

β. Το γονίδιο Α έχει την εξής αλληλουχία:

Κωδική: 5' ATGGCTGTGCTCCATTGC AATAAACCCGAGATGACCTGG 3'

Μη κωδική: 3' TACCGACACGAGGTAACGTTATTTGGGCTCTACTGGACC 5'

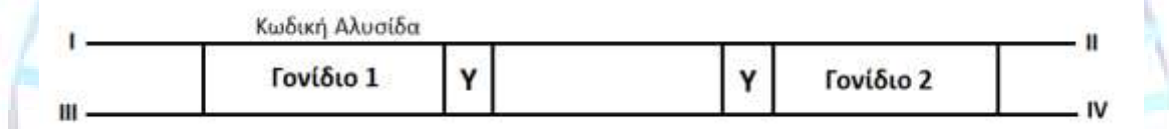
Το γονίδιο Β έχει την εξής αλληλουχία:

Κωδική: 5' ATGGCTGTGCTCCATTGC GGGTTTATTGAGATGACCTGG 3'

Μη κωδική: 3' TACCGACACGAGGTAACGCCCAAATAACTCTACTGGACC 5'

γ. Στα δύο πεπτίδια, α και β παρατηρούμε ότι έχει γίνει αλλαγή σε τρία ενδιάμεσα αμινοξέα, του 7ου, 8ου και 9ου, ενώ η πεπτιδική αλληλουχία επανέρχεται, κατόπιν, στο φυσιολογικό. Αυτό υποδηλώνει ότι το μεταλλαγμένο γονίδιο προέκυψε με αναστροφή των τριών κωδικονίων, και συγκεκριμένα εκείνων που βρίσκονται σημειωμένα τόσο στο γονίδιο Α, όσο και στο γονίδιο Β. Η σύνδεση των νουκλεοτιδίων γίνεται με 3' - 5' φωσφοδιεστερικό δεσμό με αποτέλεσμα το 5' άκρο του σημειωμένου τμήματος της μη κωδικής αλυσίδας του γονιδίου Α να ενωθεί στο 3' άκρο του πρώτου τμήματος - πριν τα σημειωμένα νουκλεοτίδια - της κωδικής αλυσίδας του γονιδίου Β και να σχηματιστούν τα κωδικόνια των αμινοξέων του πεπτιδίου β.

129. Στο παρακάτω τμήμα DNA εντοπίζονται δύο ασυνεχή γονίδια, που το καθένα φέρει το δικό του υποκινητή και κωδικοποιούν τη σύνθεση δύο διαφορετικών πρωτεϊνών. Σε ένα δεδομένο χρονικό διάστημα, βρέθηκε ότι είχαν παραχθεί πολύ περισσότερα μόρια πρωτεΐνης 1 (που κωδικοποιείται από το γονίδιο 1) σε σχέση με την πρωτεΐνη 2 (που κωδικοποιείται από το γονίδιο 2) στο κυτταρόπλασμα ενός κυττάρου, παρόλο που το κάθε γονίδιο μεταγράφηκε πολλές φορές και ο ρυθμός μεταγραφής των δύο γονιδίων ήταν ο ίδιος.

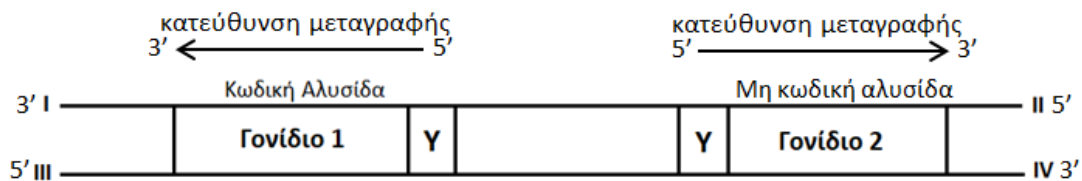


α. Αν γνωρίζετε ότι η πάνω αλυσίδα στο γονίδιο 1 είναι η κωδική, να τοποθετήσετε τα 5' και 3' άκρα στις θέσεις I, II, III και IV του τμήματος αυτού (μονάδες 2) και να αιτιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 3). Να εξηγήσετε ποια αλυσίδα είναι η μη κωδική στο γονίδιο 2 (μονάδες 2).

β. Να εξηγήσετε ποιοι μηχανισμοί γονιδιακής ρύθμισης επέδρασαν, και με ποιον τρόπο, κατά την έκφραση των δύο γονιδίων, έτσι ώστε τελικά να έχουμε περισσότερα μόρια πρωτεΐνης 1 σε σχέση με την πρωτεΐνη 2 (μονάδες 6).

α. Ο όρος κωδικόνιο δεν αφορά μόνο στο mRNA αλλά και στην κωδική αλυσίδα του γονιδίου,

καθώς η κωδική αλυσίδα περιέχει την ίδια αλληλουχία και προσανατολισμό με το παραγόμενο mRNA αφού αποτελούν συμπληρωματικές και αντιπαράλληλες αλυσίδες της ίδιας μη κωδικής αλυσίδας. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι μετά την πρόσδεση της RNA πολυμεράσης στον υποκινητή με τη βοήθεια των μεταγραφικών παραγόντων και το ξετύλιγμα της διπλής έλικας, αυτή τοποθετεί συμπληρωματικά ριβονουκλεοτίδια με καλούπι τη μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου (με προσανατολισμό 5'→3') κι έτσι συντίθεται ένα mRNA που αποτελεί πιστό αντίγραφο της κωδικής αλυσίδας του γονιδίου, μόνο που αντί ουρακίλης περιέχει θυμίνη. Η κατεύθυνση της μεταγραφής και κατ' επέκταση του mRNA που παράγεται από το γονίδιο 1 είναι η παρακάτω:



Συνεπώς, οι κατευθύνσεις των αλυσίδων του DNA είναι: I-3', II- 5', III- 5', IV-3'.

Η μη κωδική αλυσίδα ενός γονιδίου είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη ως το mRNA που παράγεται. Με βάση την κατεύθυνση της μεταγραφής του γονιδίου 2, η μη κωδική αλυσίδα είναι η πάνω.

β. Αν και πραγματοποιήθηκε πολλαπλή μεταγραφή του κάθε γονιδίου και ο ρυθμός μεταγραφής τους ήταν ίδιος, δηλαδή παράχθηκε σχεδόν ίσος αριθμός μορίων mRNA από κάθε γονίδιο σε καθορισμένο χρόνο, τελικά προέκυψαν περισσότερα μόρια πρωτεΐνης 1 σε σχέση με την πρωτεΐνη 2. Αυτό μπορεί να συμβεί διότι η γονιδιακή έκφραση στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς ρυθμίζεται σε πολλαπλά επίπεδα (π.χ. μετά τη μεταγραφή, κατά τη μετάφραση) με πολύπλοκο τρόπο. Στο επίπεδο μετά τη μεταγραφή, πραγματοποιείται έλεγχος της ταχύτητας με την οποία τα ώριμα mRNA αφήνουν τον πυρήνα και φτάνουν στις θέσεις πρωτεϊνοσύνθεσης, ενώ στο επίπεδο της μετάφρασης, ρυθμίζεται ο χρόνος ζωής των mRNA και η ικανότητα πρόσδεσης της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος στο 5' άκρο του κάθε mRNA. Επίσης, πολλά ριβοσώματα μπορούν να μεταφράζουν ταυτόχρονα ένα mRNA, το καθένα σε διαφορετικό σημείο κατά μήκος του μορίου. Αμέσως μόλις το ριβόσωμα έχει μεταφράσει τα πρώτα κωδικόνια, η θέση έναρξης του mRNA είναι ελεύθερη για την πρόσδεση ενός άλλου ριβοσώματος. Το σύμπλεγμα των ριβοσωμάτων με mRNA ονομάζεται πολύσωμα.

130. Μια πολυπεπτιδική αλυσίδα αποτελείται από 147 αμινοξέα και παράγεται από ένα γονίδιο που έχει πέντε εξώνια. Παρακάτω δίνεται τμήμα της αλληλουχίας του δεύτερου εξωνίου του γονιδίου από το οποίο κωδικοποιούνται οκτώ από τα αμινοξέα της αλυσίδας αυτής και κόβεται από την περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI.

I ...TGGAATTCCTCATAGTTAACTGGTTA...II
 III ...ACCTTAAGGAGAATCAATTGACCAAT...IV

Θέση
Υποκινητή

α. Να βρείτε πόσοι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί θα σπάσουν και πόσοι θα σχηματιστούν κατά τη διαδικασία ωρίμανσης του mRNA που παράγεται από το γονίδιο αυτό (μονάδες 4) και να ονομάσετε τα ένζυμα τα οποία συμμετέχουν στη διαδικασία αυτή (μονάδα 1).

β. Να τοποθετήσετε στις θέσεις I έως IV, τα 5' και 3' άκρα των αλυσίδων DNA που σας δίνονται (μονάδες 2), αιτιολογώντας την απάντησή σας (μονάδες 2).

γ. Να γράψετε τα κωδικόνια του mRNA που κωδικοποιούν τα οκτώ αμινοξέα με βάση το εξώνιο που δίνεται (μονάδες 2) και να αιτιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 2).

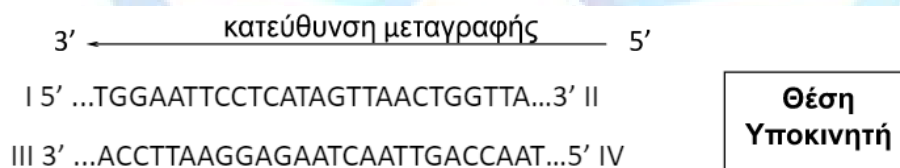
α. Για την αφαίρεση κάθε εσωνίου από το πρόδρομο mRNA σπάνε 2 φωσφοδιεστερικοί δεσμοί. Τα εσώνια είναι τέσσερα, άρα συνολικά θα σπάσουν 8 φωσφοδιεστερικοί δεσμοί. Κατά τη συρραφή δύο εξωνίων μεταξύ τους σχηματίζεται ένας φωσφοδιεστερικός δεσμός, άρα συνολικά θα σχηματιστούν 4 φωσφοδιεστερικοί δεσμοί. Τα ένζυμα που συμμετέχουν στην ωρίμανση του mRNA είναι τα μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια.

β. Γνωρίζουμε ότι η EcoRI κόβει αυτή την αλληλουχία DNA. Η εύρεση των κατεύθυνσεων των αλυσίδων θα βασιστεί στην αλληλουχία αναγνώρισης της EcoRI. Η περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI αναγνωρίζει την αλληλουχία:

5' GAATTC 3'

3' CTTAAG 5', την οποία κόβει μεταξύ του G και A (με κατεύθυνση 5' → 3'). Άρα: I-5', II-3', III-3' και IV-5'.

γ. Λόγω της θέσης του υποκινητή, η κατεύθυνση της μεταγραφής θα είναι:



Άρα, η κωδική αλυσίδα θα είναι η κάτω (III-IV). Επειδή η αλληλουχία προέρχεται από το δευτερο εξώνιο, όταν την διαβάζουμε ανά τριάδες, μη επικαλυπτόμενα και συνεχώς (με όλα τα πιθανά πλαίσια ανάγνωσης) δεν θα πρέπει να σχηματίζεται κωδικόνιο λήξης. Άρα, οι τριάδες νουκλεοτιδίων θα ξεκινήσουν από το δεύτερο νουκλεοτίδιο και τα κωδικόνια του mRNA θα είναι: 5' -AAC CAG UUA ACU AAG AGG AAU UCC- 3'.

133. Τα βακτήρια *Escherichia coli*, όταν στο περιβάλλον τους υπάρχει μίγμα γλυκόζης και λακτόζης, χρησιμοποιούν πρώτα ως πηγή ενέργειας τη γλυκόζη και μόνο όταν αυτή εξαντληθεί προχωρούν στη διάσπαση της λακτόζης. Τα βακτήρια «αντιλαμβάνονται» τα επίπεδα συγκέντρωσης της γλυκόζης στο περιβάλλον τους μέσω της ενεργοποίησης μιας πρωτεΐνης που ονομάζεται CAP. Υπό συνθήκες έλλειψης γλυκόζης (και παρουσίας λακτόζης), η πρωτεΐνη αυτή συνδέεται στον υποκινητή των δομικών γονιδίων του οπερονίου της λακτόζης και διευκολύνει την πρόσδεση της RNA πολυμεράσης εκεί (ενώ ο καταστολέας έχει απομακρυνθεί με τον γνωστό μηχανισμό). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η μεταγραφή των γονιδίων του οπερονίου να γίνεται με υψηλούς ρυθμούς. Αντίθετα, παρουσία γλυκόζης (και λακτόζης), η RNA πολυμεράση δύσκολα προσδέεται στον υποκινητή, λόγω απουσίας της πρωτεΐνης CAP, και έτσι η μεταγραφή τους πραγματοποιείται με πολύ χαμηλούς ρυθμούς.

α. Να εξηγήσετε γιατί τα βακτήρια ρυθμίζουν το μεταβολισμό τους μέσω των οπερονίων (μονάδες 6).

β. Να εξηγήσετε σε ποια/ποιες από τις παρακάτω περιπτώσεις θα συμβεί μεταγραφή των δομικών γονιδίων του οπερονίου (μονάδες 6).

	Παρουσία γλυκόζης	Παρουσία λακτόζης	Πρόσδεση της πρωτεΐνης CAP στο οπερόνιο
1	+	+	-
2	-	-	+
3	-	+	+

+: ναι, -: όχι

α. Στα βακτήρια, 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. Αυτού του είδους η ρύθμιση αποσκοπεί κυρίως στην προσαρμογή των οργανισμών αυτών στις εναλλαγές του περιβάλλοντος, έτσι ώστε να εξασφαλίζονται οι καλύτερες συνθήκες για τις βασικές λειτουργίες τους, που είναι η αύξηση και η διαίρεση.

β. Στις περιπτώσεις 1 και 3 θα συμβεί μεταγραφή των δομικών γονιδίων. Τόσο στην περίπτωση 1, όσο και στην 3, η λακτόζη συνδέεται με την πρωτεΐνη-καταστολέα, την απενεργοποιεί και έτσι, η πρωτεΐνη-καταστολέας δεν μπορεί πλέον να συνδεθεί στον χειριστή. Στην περίπτωση 1, αν και δεν υπάρχει το εμπόδιο της πρωτεΐνης-καταστολέας, λόγω της παρουσίας γλυκόζης, δεν γίνεται σύνδεση της πρωτεΐνης CAP στον υποκινητή. Αυτό σημαίνει ότι δεν διευκολύνεται η πρόσδεση της RNA πολυμεράσης στον υποκινητή. Έτσι, θα γίνει μεταγραφή των δομικών γονιδίων, αλλά με πολύ χαμηλούς ρυθμούς. Στην περίπτωση 3, η απουσία γλυκόζης προκαλεί σύνδεση της πρωτεΐνης CAP στον υποκινητή των δομικών γονιδίων, γεγονός που διευκολύνει την πρόσδεση της RNA πολυμεράσης στον υποκινητή. Επομένως, η μεταγραφή των γονιδίων θα γίνει με υψηλούς ρυθμούς. Στην περίπτωση 2, η απουσία λακτόζης στο περιβάλλον του βακτηρίου προκαλεί καταστολή της έκφρασης των δομικών γονιδίων μέσω της πρόσδεσης της πρωτεΐνης-καταστολέας στον υποκινητή, μπλοκάροντας έτσι τη δράση της RNA πολυμεράσης.

137. Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, τα περισσότερα γονίδια είναι ασυνεχή (διακεκομμένα), δηλαδή περιλαμβάνουν ενδιάμεσες αλληλουχίες, τα εσώνια, που αφαιρούνται μέσω της διαδικασίας της ωρίμανσης των πρόδρομων mRNA μορίων που παράγουν. Επιπλέον, στα πλαίσια της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης, μια πρωτεΐνη, για να γίνει βιολογικά λειτουργική, μπορεί να υποστεί τροποποιήσεις μετά τη διαδικασία της μετάφρασης. Παρακάτω, δίνεται τμήμα ενός μορίου DNA ευκαρυωτικού κυττάρου που περιέχει ένα ασυνεχές μικρό γονίδιο, το οποίο είναι υπεύθυνο για τη σύνθεση του πεπτιδίου: H₂N - φαινυλαλανίνη - βαλίνη - προλίνη - τρυπτοφάνη - μεθειονίνη - COOH

...AACGATATGTTTCCCGGGGAGGTTCCATGGATGTAAGACTGA...αλυσίδα I

...TTGCTATACAAAGGGCCCTCCAAGGTACCTACATTCTGACT...αλυσίδα II

Δίνονται οι παρακάτω αντιστοιχίσεις αμινοξέων και κωδικονίων από το γενετικό κώδικα:

Φαινυλαλανίνη: 5'-UUU-3',

Βαλίνη: 5'-GUU-3',

Προλίνη: 5'-CCC-3', 5'-CCA-3', 5'-CCG-3', 5'-CCT-3',

Τρυπτοφάνη: 5'-UGG-3'.

α. Να σημειώσετε τα 5' και 3' άκρα του δίκλωνου μορίου DNA, υποδηλώνοντας ποια αλυσίδα είναι η κωδική και ποια η μη κωδική, με δεδομένο ότι το τελικό πεπτίδιο έχει υποστεί τροποποίηση με αφαίρεση ενός αμινοξέος (μονάδες 4). Να γράψετε το πρόδρομο mRNA του γονιδίου (μονάδες 2). Να μην αιτιολογήσετε τις απαντήσεις σας.

β. Να γράψετε το ώριμο mRNA και το αρχικό προϊόν της μετάφρασης του mRNA (μονάδες 2), αναφέροντας τις επιμέρους μοριακές διαδικασίες με τις οποίες προέκυψαν τα μόρια αυτά (μονάδες 2). Να αναφέρετε σε ποιες περιοχές του κυττάρου πραγματοποιούνται οι προαναφερόμενες διαδικασίες γονιδιακής έκφρασης (μονάδες 2).

Μονάδες 12

α. Παρακάτω παρατίθενται η κωδική και η μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου με τους προσανατολισμούς τους:

Κωδική: 5'...AACGATATGTTTCCCGGGGAGGTTCCATGGATGTAAGACTGA..3' αλυσίδα I

Μη Κωδική: 3'...TTGCTATACAAAGGGCCCTCCAAGGTACCTACATTCTGACT..5' αλυσίδα II
Πρόδρομο mRNA: 5'...AACGAUAUGUUUCCCGGGGAGGUUCCAUGGAUGUAAGACUGA...3'
β. Το ώριμο mRNA προκύπτει από το πρόδρομο mRNA αφού αφαιρεθεί το εσώνιο (όπως επισημαίνεται παρακάτω). Συνεπώς:

Πρόδρομο mRNA: 5'...AACGAU AUG UUU CCCGGGGAG GUU CCA UGG AUG UAA GACUGA...3'
Ώριμο mRNA: 5'...AACGAU AUG UUU GUU CCA UGG AUG UAA GACUGA...3'

Το αρχικό προϊόν της μετάφρασης είναι:

H₂N - μεθειονίνη-φαινυλαλανίνη - βαλίνη - προλίνη - τρυπτοφάνη -μεθειονίνη- COOH

Συγκρίνοντας το αρχικό προϊόν της μετάφρασης με το τελικό

(H₂N - φαινυλαλανίνη - βαλίνη - προλίνη - τρυπτοφάνη -μεθειονίνη - COOH) συμπεραίνουμε ότι έχει αφαιρεθεί η αρχική μεθειονίνη από το αμινικό άκρο του πεπτιδίου.

Αρχικά, η διαδικασία της μεταγραφής, δηλαδή η σύνθεση του πρόδρομου mRNA, πραγματοποιείται στον πυρήνα. Ακολουθεί η ωρίμανση του πρόδρομου mRNA και η μετατροπή του σε ώριμο mRNA (αποκοπή εσωνίων και συρραφή εξωνίων), διαδικασία που, επίσης, πραγματοποιείται στον πυρήνα από τα μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια. Το ώριμο mRNA φεύγει από τον πυρήνα και φτάνει στις θέσεις παραγωγής των πρωτεϊνών, δηλαδή στα ριβοσώματα (που βρίσκονται είτε ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα είτε στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο), για να πραγματοποιηθεί η διαδικασία της μετάφρασης.

142. Η β-θαλασσαιμία χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια, καθώς προκαλείται από πολλά διαφορετικά είδη γονιδιακών μεταλλάξεων, όπως αντικαταστάσεις, ελλείψεις και προσθήκες βάσεων. Κατά τη μελέτη ορισμένων αλληλόμορφων γονιδίων της β- πολυπεπτιδικής αλυσίδας της ανθρώπινης αιμοσφαιρίνης, βρέθηκε ότι οι σιωπηλές μεταλλάξεις δεν είχαν αντίκτυπο στο φαινότυπο του ατόμου που τις έφερε. Υπάρχουν όμως άλλες μεταλλάξεις, σε συγκεκριμένα κωδικόνια, όπως αυτό της τρυπτοφάνης που είχαν σοβαρές επιπτώσεις στην παραγόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα.

α. Να εξηγήσετε γιατί οι σιωπηλές μεταλλάξεις δεν επηρέασαν τον φαινότυπο του ατόμου (μονάδες 3). Να δικαιολογήσετε το γεγονός ότι οι μεταλλάξεις που αφορούσαν το κωδικόνιο της τρυπτοφάνης (5'TGG3') είχαν σοβαρή επίδραση στην παραγόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα (μονάδες 3).

β. Οι μεταλλάξεις μπορεί να συμβαίνουν και εκτός των περιοχών των γονιδίων που μεταφράζονται σε αμινοξέα με σοβαρό αντίκτυπο στην έκφραση τους. Να γράψετε γιατί μια μετάλλαξη i) στην αλληλουχία του υποκινητή (μονάδες 3) και ii) στην αλληλουχία του γονιδίου που μεταγράφεται στην 5' αμετάφραστη περιοχή (μονάδες 4), θα μπορούσε να οδηγήσει αντίστοιχα στη μη σύνθεση της β- πολυπεπτιδικής αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης.

Μονάδες 13

α. 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. Συνεπώς, προέκυψε συνώνυμο κωδικόνιο, όπου τοποθετήθηκε το ίδιο αμινοξύ και έτσι δεν επηρεάστηκε η στερεοδιάταξη της πρωτεΐνης. Ο γενετικός κώδικας χαρακτηρίζεται ως εκφυλισμένος. Με εξαίρεση δύο αμινοξέα (μεθειονίνη και τρυπτοφάνη) τα υπόλοιπα 18 αμινοξέα κωδικοποιούνται από δύο μέχρι και έξι διαφορετικά συνώνυμα κωδικόνια. Συνεπώς η τρυπτοφάνη ανήκει στα αμινοξέα που κωδικοποιείται από μόνο ένα κωδικόνιο και οποιαδήποτε μετάλλαξη στο κωδικόνιο αυτό οδηγεί σε αλλαγή του αμινοξέος και πιθανώς σε αλλαγή της στερεοδιάταξης της πρωτεΐνης.

β. i. Η RNA πολυμεράση προσδένεται σε ειδικές περιοχές του DNA, που ονομάζονται υποκινητές, με τη βοήθεια πρωτεϊνών που ονομάζονται μεταγραφικοί παράγοντες. Μια μετάλλαξη

στην αλληλουχία του υποκινητή θα μπορούσε να οδηγήσει στη μη σύνδεση της RNA πολυμεράσης στην αλληλουχία και συνεπώς στην αδυναμία παραγωγής του mRNA.

ii. Η 5' αμετάφραστη περιοχή στο mRNA συνδέεται λόγω συμπληρωματικότητας και αντιπαραλληλίας με αλληλουχία στο rRNA της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος για να σχηματιστεί στη συνέχεια το σύμπλοκο έναρξης της μετάφρασης. Μια μετάλλαξη στην περιοχή που κωδικοποιεί την 5' αμετάφραστη περιοχή στο mRNA μπορεί να οδηγήσει στην αδυναμία δημιουργίας του συμπλόκου έναρξης της μετάφρασης και άρα της μετάφρασης του εν λόγω mRNA και της αντίστοιχης πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

147. Η μεταγραφή ενός γονιδίου και η μετάφραση του mRNA που έχει παραχθεί από την εν λόγω μεταγραφή, έχει ως αποτέλεσμα τη σύνθεση μιας πεπτιδικής αλυσίδας. Τα πεπτίδια στα οποία ο αριθμός των αμινοξέων υπερβαίνει τα 50 ονομάζονται πολυπεπτίδια, ενώ όταν ο αριθμός δεν υπερβαίνει τα 50 ονομάζονται ολιγοπεπτίδια. Παρακάτω φαίνεται η αλληλουχία των δύο κλώνων ενός γονιδίου το οποίο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή ενός ολιγοπεπτιδίου.

I	5'	G	G	A	A	T	T	C	A	T	G	A	C	T	A	C	T	C	C	A	C	C	T	C	C	A	T	G	A	A	T	T	C	G
II	3'	C	C	T	T	A	A	G	T	A	C	T	G	A	T	G	A	G	G	T	G	G	A	G	G	T	A	C	T	T	A	A	G	C

Ύστερα από χρήση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης EcoRI στην παραπάνω αλληλουχία προέκυψε τμήμα που εντάχθηκε σε πλασμίδιο. Το πλασμίδιο, στη συνέχεια, εισήχθη σε βακτήριο με αποτέλεσμα την παραγωγή του ολιγοπεπτιδίου με αλληλουχία αμινοξέων:

H₂N-μεθειονίνη-γλουταμινικόξυ-βαλίνη-γλουταμινικό οξύ-COOH.

α. Να υποδείξετε τα σημεία στα οποία κόβει η περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI στην παραπάνω αλληλουχία και να υπολογίσετε πόσοι και τι είδους δεσμοί καταστρέφονται κατά τη δράση της (άμεσα ή έμμεσα) (μονάδες 4).

β. Να εξηγήσετε ποιος από τους δύο κλώνους αποτελεί τον κωδικό κλώνο της αλληλουχίας (μονάδες 3).

γ. Να εξηγήσετε ποια ήταν η θέση του υποκινητή στο πλασμίδιο προκειμένου να παραχθεί το ολιγοπεπτίδιο της εκφώνησης (μονάδες 3) και να εξηγήσετε ποια θα ήταν η συνέπεια αν το γονίδιο εισαγόταν στο πλασμίδιο με αντίθετο προσανατολισμό (μονάδες 3).

Μονάδες 13

α. Η EcoRI αναγνωρίζει την αλληλουχία: 5'-G↓AATTC-3'
3'-CTTAA↓G-5'

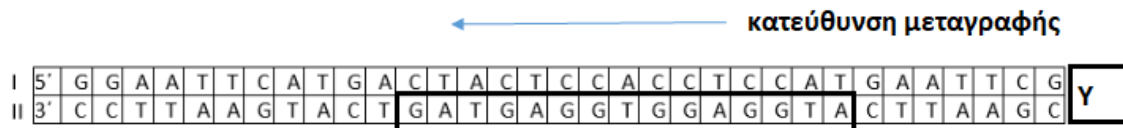
και κόβει κάθε αλυσίδα μεταξύ των νουκλεοτιδίων με βάση G και A (με κατεύθυνση 5'→3') αφήνοντας μονόκλινα άκρα από αζευγάρωτες βάσεις στα κομμένα άκρα. Τα άκρα αυτά μπορούν να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου με τις συμπληρωματικές βάσεις άλλων κομματιών DNA που έχουν κοπεί με το ίδιο ένζυμο. Στη συγκεκριμένη αλληλουχία υπάρχουν δύο σημεία όπου κόβει η περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI, όπως υποδεικνύεται παρακάτω, με αποτέλεσμα να καταστρέφονται συνολικά 20 δεσμοί, 16 δεσμοί υδρογόνου και 4 φωσφοδιεστερικοί δεσμοί.

I	5'	G	G	A	A	T	T	C	A	T	G	A	C	T	A	C	T	C	C	A	C	C	T	C	C	A	T	G	A	A	T	T	C	G
II	3'	C	C	T	T	A	A	G	T	A	C	T	G	A	T	G	A	G	G	T	G	G	A	G	G	T	A	C	T	T	A	A	G	C

β. Ο κλώνος που αποτελεί τον κωδικό κλώνο της αλληλουχίας είναι ο κλώνος II, ενώ ο κλώνος που αποτελεί τον μη κωδικό κλώνο, με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας και της αντιπαραλληλίας των δύο αλυσίδων, είναι ο I. Αυτό συμβαίνει διότι στον κλώνο II συναντάμε με βήμα τριπλέτας, συνεχώς και μη επικαλυπτόμενα, τα κωδικόνια, 5'ATG3' (που αντιστοιχεί στο

κωδικόνιο έναρξης $5' \text{AUG}^3'$ του mRNA και κωδικοποιεί για το αμινοξύ μεθειονίνη), καθώς και τα κωδικόνια για τα αμινοξέα γλουταμινικό οξύ, βαλίνη, γλουταμινικό οξύ. Τέλος, μετά τα κωδικόνια που κωδικοποιούν το ολιγοπεπτίδιο συναντάμε στο κλώνο II το κωδικόνιο λήξης $5' \text{TAG}^3'$ που αντιστοιχεί στο κωδικόνιο λήξης $5' \text{TAG}^3'$ στο mRNA. (Γνωρίζουμε ότι τα κωδικόνια για το γλουταμινικό οξύ και τη βαλίνη είναι αντίστοιχα τα $5' \text{GAG}^3'$ και $5' \text{GTG}^3'$ από την αλληλουχία του γονιδίου B της αιμοσφαιρίνης HbA του ανθρώπου, όπου στην περίπτωση της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας το γλουταμινικό οξύ $5' \text{GAG}^3'$ μεταλλάσσεται σε $5' \text{GTG}^3'$ για βαλίνη).

γ. Ο υποκινητής πρέπει να βρίσκεται στα δεξιά της αλληλουχίας που δίνεται, ώστε να μεταγραφεί ο μη κωδικός κλώνος I με κατεύθυνση από το $3'$ προς το $5'$ άκρο του. Η μεταγραφή καταλύεται από ένα ένζυμο, την RNA πολυμεράση (στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς υπάρχουν τρία είδη RNA πολυμερασών). Η RNA πολυμεράση προσδέεται σε ειδικές περιοχές του DNA, που ονομάζονται υποκινητές, με τη βοήθεια πρωτεϊνών που ονομάζονται μεταγραφικοί παράγοντες. Οι υποκινητές και οι μεταγραφικοί παράγοντες αποτελούν τα ρυθμιστικά στοιχεία της μεταγραφής του DNA και επιτρέπουν στην RNA πολυμεράση να αρχίσει σωστά τη μεταγραφή. Οι υποκινητές βρίσκονται πάντοτε πριν από την αρχή κάθε γονιδίου.



Αν η αλληλουχία τοποθετείτο με αντίθετο προσανατολισμό ως προς τον υποκινητή, τότε θα διαβαζόταν ως μη κωδική η αλυσίδα II, και η κατεύθυνση της μεταγραφής θα οδηγούσε στην παραγωγή ενός mRNA που θα περιείχε επίσης κωδικόνιο έναρξης και λήξης, αλλά ενδιάμεσα θα υπήρχαν διαφορετικά κωδικονια από εκείνα του πεπτιδίου που θέλουμε να παραχθεί. Συγκεκριμένα διαβάζουμε τα κωδικονια $5' \text{-ATG ACT ACT CCA CCT CCA TGA -3'}$, με το τελευταίο να αποτελεί το κωδικόνιο λήξης. Άρα θα παραγόταν ένα διαφορετικό πεπτίδιο με 6 αμινοξέα.

149. Στο DNA ενός βακτηρίου υπάρχει ένα γονίδιο που κωδικοποιεί για την παραγωγή ενός ολιγοπεπτιδίου με έξι αμινοξέα.

Κλώνος I: TACGCCATGGAGGTGGAGATGGAGTAGAAACCCCAA

Κλώνος II: ATGCGGTACCTCCACCTCTACCTCATCTTTGGGGTT

α. Να εξηγήσετε ποιος είναι ο κωδικός και μη κωδικός κλώνος του γονιδίου (μονάδες 2) και να τοποθετήσετε κατάλληλα τα $5'$ και $3'$ άκρα των κλώνων (μονάδες 2).

β. Να γράψετε την αλληλουχία του mRNA που προκύπτει από τη μεταγραφή του γονιδίου (μονάδες 2) και να προσδιορίσετε την αλληλουχία των αμινοξέων του ολιγοπεπτιδίου που θα προκύψει από τη μετάφραση του (μονάδες 4).

γ. Μία μετάλλαξη στο γονίδιο, οδήγησε στη δημιουργία ενός μη λειτουργικού πεπτιδίου που έχει ίδιο αριθμό αμινοξέων αλλά στη θέση του δεύτερου αμινοξέος περιέχει βαλίνη. Να εξηγήσετε ποιο είδος μετάλλαξης έχει υποστεί το φυσιολογικό γονίδιο (μονάδες 2) και να τη χαρακτηρίσετε με βάση το αποτέλεσμα της στη λειτουργικότητα του πεπτιδίου (μονάδα 1).

Μονάδες 13

α. Ο κλώνος I αντιστοιχεί στο κωδικό κλώνο, ενώ ο κλώνος II αποτελεί τον μη κωδικό κλώνο. Αυτό συμβαίνει διότι στον κλώνο I συναντάμε με βήμα τριπλέτας, συνεχώς και μη επικαλυπτόμενα, τα κωδικόνια $5' \text{ATG}^3'$ (που αντιστοιχεί στο κωδικόνιο έναρξης $5' \text{AUG}^3'$ του mRNA που κωδικοποιεί για το αμινοξύ μεθειονίνη) και το κωδικόνιο λήξης $5' \text{TAG}^3'$ που αντιστοιχεί στο κωδικόνιο λήξης $5' \text{UAG}^3'$ στο mRNA. Επομένως, οι προσανατολισμοί των δύο κλώνων θα είναι:

Κλώνος I: 5' TACGCCATGGAGGTGGAGATGGAGTAGAAACCCCAA3'

Κλώνος II: 3' ATGCGGTACCTCCACCTCTACCTCATCTTTGGGGTT5'

β. Η αλληλουχία του mRNA είναι η εξής:

5' UACGCCAUG.GAG.GUG.GAG.AUG.GAG.UAGAAACCCCAA3'

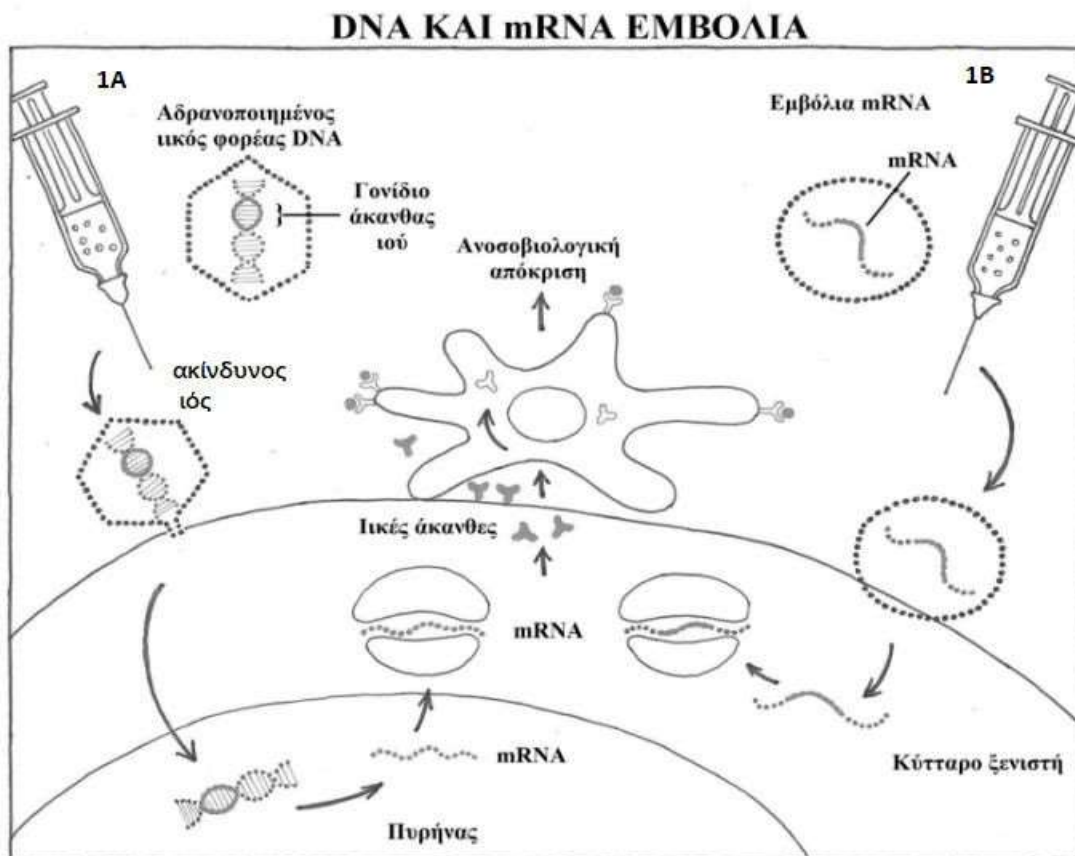
Η τριπλέτα $5' \text{AUG}^3$ κωδικοποιεί το αμινοξύ μεθειονίνη, η τριπλέτα $5' \text{GAG}^3$ το αμινοξύ γλουταμινικό οξύ και η τριπλέτα $5' \text{GUG}^3$ το αμινοξύ βαλίνη. Η αλληλουχία των αμινοξέων θα είναι: H_2N -μεθειονίνη-γλουταμινικό οξύ-βαλίνη-γλουταμινικό οξύ-μεθειονίνη-γλουταμινικό οξύ-COOH.

γ. Η νέα αλληλουχία των αμινοξέων του μη λειτουργικού πεπτιδίου είναι η:

H_2N -μεθειονίνη -βαλίνη- βαλίνη-γλουταμινικό οξύ- μεθειονίνη- γλουταμινικό οξύ- COOH.

Η μετάλλαξη που οδήγησε στην αλλαγή του κωδικονίου $5' \text{GAG}^3$ σε $5' \text{GTG}^3$ είναι πιθανότατα μία αντικατάσταση βάσης στο δεύτερο νουκλεοτίδιο του κωδικονίου, όπου από νουκλεοτίδιο με βάση A τοποθετήθηκε νουκλεοτίδιο με βάση T. Η συγκεκριμένη αλλαγή του αμινοξέος, επηρεάζει πιθανότατα τη διαμόρφωση του πεπτιδίου στο χώρο, καθιστώντας το μη λειτουργικό, άρα πρόκειται για μία μη ουδέτερη μετάλλαξη.

154. Η παρασκευή εμβολίων έναντι του νέου κορονοϊού, SARS-CoV-2, αποτελεί ένα μεγάλο επίτευγμα της σύγχρονης Βιολογίας. Στην εικόνα 1 παρουσιάζονται δύο από τις μεθοδολογίες που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή εμβολίων κατά τη διάρκεια της πανδημίας της νόσου COVID-19.



Εικόνα 1

Πιο συγκεκριμένα στην Εικόνα 1A παρουσιάζεται η εισαγωγή (μέσω εμβολίου) του γονιδίου που κωδικοποιεί για μία επιφανειακή πρωτεΐνη (ική άκανθα) του ιού, που δρα ως αντιγονικός καθοριστής στα άτομα που εμβολιάζονται. Το γονίδιο εισάγεται με τη βοήθεια κατάλ-

ληλου ικού φορέα DNA, όπως συνηθίζεται σε αυτήν την κατηγορία εμβολίων (εμβόλιο DNA). Από την άλλη μεριά, στην Εικόνα 1B παρουσιάζεται η εισαγωγή του mRNA για το ίδιο τμήμα του γονιδίου της ιικής άκανθας, το οποίο, όμως, εισάγεται με τη βοήθεια ενός νανομοριακού λιπιδικού καλύμματος (εμβόλιο RNA). Παρακάτω φαίνονται οι νουκλεοτιδικές αλληλουχίες του γονιδίου (εικόνα 2α) και του αντίστοιχου mRNA μετάγραφου, που κωδικοποιεί την επιφανειακή πρωτεΐνη του ιού (εικόνα 2β). Γνωρίζουμε ότι τα τμήματα της επιφανειακής πρωτεΐνης του ιού, που στοχεύουν να παράξουν και τα δύο είδη εμβολίων μέσα στο σώμα του εμβολιαζόμενου είναι απόλυτα όμοια, ενώ δεν λαμβάνει χώρα κάποια μετα-μεταφραστική τροποποίηση μετά τη σύνθεσή τους.

1-TATAACCACCAATGTTATTGCT T C TT T C TTGACCC AAAATTTT-OH

2-ATATTGGTGGTTACAATAACGAAGAAAGAACTGGGTTTAAAA

Εικόνα 2α

3'-UUUUAAAACCCAGUUCUUUCUUCGUUAUUGUAACCACC-5'

Εικόνα 2β

α. Να αναφέρετε σε ποια κατηγορία εμβολίων νέας γενιάς ανήκει το εμβόλιο της εικόνας 1A (μονάδες 2) και να περιγράψετε πως λειτουργούν τα εμβόλια αυτά (μονάδες 3).

β. Να γράψετε την αλληλουχία των αμινοξέων που παράγει τόσο το εμβόλιο DNA όσο και το εμβόλιο mRNA (μονάδες 3).

γ. Η ομάδα που αναπτύσσει τα εμβόλια υποστηρίζει ότι η αλληλουχία των αμινοξέων του τμήματος της ιικής ακίδας, που έχει επιλέξει για την παρασκευή του εμβολίου, μπορεί να διασφαλίσει προστασία από μια πληθώρα μεταλλάξεων. Μελετώντας προσεκτικά την αλληλουχία των αμινοξέων του πεπτιδίου που παράγεται και αξιοποιώντας τις ιδιότητες του γενετικού κώδικα, να εξηγήσετε την αισιοδοξία των μελών της ερευνητικής ομάδας (μονάδες 5).

Μονάδες 13

		Δεύτερο γράμμα							
		U	C	A	G				
U	UUU	Φαινυλαλανίνη (phe)	UUC	Φαινυλαλανίνη (phe)	UUA	Λεύκινη (leu)	UUG	Λεύκινη (leu)	U C A G
	UUC	Φαινυλαλανίνη (phe)	UCC	Σερίνη (ser)	UAC	Λεύκινη (leu)	UGC	Κυστεΐνη (cys)	
	UUA	Λεύκινη (leu)	UCA	Σερίνη (ser)	UAA	Λύση / Λύση	UGA	Λύση / Λύση	
	UUG	Λεύκινη (leu)	UCG	Σερίνη (ser)	UAG	Λύση / Λύση	UGG	Τρυπτοφάνη (trp)	
C	CUU	Λεύκινη (leu)	CCU	Προλίνη (pro)	CAU	Ιστιδίνη (his)	CGU	Αργινίνη (arg)	U C A G
	CUC	Λεύκινη (leu)	CCC	Προλίνη (pro)	CAC	Ιστιδίνη (his)	CGC	Αργινίνη (arg)	
	CUA	Λεύκινη (leu)	CCA	Προλίνη (pro)	CAA	Γλοταμίνη (gln)	CGA	Αργινίνη (arg)	
	CUG	Λεύκινη (leu)	CCG	Προλίνη (pro)	CAG	Γλοταμίνη (gln)	CGG	Αργινίνη (arg)	
A	AUU	Ισολευκίνη (ile)	ACU	Θρεονίνη (thr)	AAU	Ασπαράγιν (asn)	AGU	Σερίνη (ser)	U C A G
	AUC	Ισολευκίνη (ile)	ACC	Θρεονίνη (thr)	AAC	Ασπαράγιν (asn)	AGC	Σερίνη (ser)	
	AUA	Ισολευκίνη (ile)	ACA	Θρεονίνη (thr)	AAA	Λυσίνη (lys)	AGA	Αργινίνη (arg)	
	AUG	Μεθειονίνη (met) / Ύαρις	ACG	Θρεονίνη (thr)	AAG	Λυσίνη (lys)	AGG	Αργινίνη (arg)	
G	GUU	Βαλίνη (val)	GCU	Αλανίνη (ala)	GAU	Ασπαρτικό οξύ (asp)	GGU	Γλυκίνη (gly)	U C A G
	GUC	Βαλίνη (val)	GCC	Αλανίνη (ala)	GAC	Ασπαρτικό οξύ (asp)	GGC	Γλυκίνη (gly)	
	GUA	Βαλίνη (val)	GCA	Αλανίνη (ala)	GAA	Γλουταμικό οξύ (glu)	GGA	Γλυκίνη (gly)	
	GUG	Βαλίνη (val)	GCG	Αλανίνη (ala)	GAG	Γλουταμικό οξύ (glu)	GGG	Γλυκίνη (gly)	

α. Το εμβόλιο της εικόνας 1α αποτελεί εμβόλιο από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς. Στα συγκεκριμένα εμβόλια, γονίδια από επικίνδυνο ιό (εδώ αναφερόμαστε στον κορονοϊό) ή άλλο μικροοργανισμό ενσωματώνονται σε άλλον ιό, που είναι αβλαβής για τον άνθρωπο (πχ. ιός της δαμαλίτιδας). Ο γενετικά τροποποιημένος ιός που προκύπτει εξακολουθεί να είναι αβλαβής. Ωστόσο, παράγει την αντιγονική πρωτεΐνη του ιού ή του μικροοργανισμού, εισάγεται στο σώμα και προκαλεί έντονη ανοσολογική αντίδραση.

β. Η περιοχή στη κωδική αλυσίδα του DNA που μεταφράζεται τόσο στο εμβόλιο DNA όσο και στο εμβόλιο mRNA έχει την εξής αλληλουχία:

5'..ATG-TTA-TTG-CTT-CTT-TCT-TGA..3'

Από αυτήν προκύπτει το πεπτίδιο: NH₂-Met-Leu-Leu-Leu-Ser-COOH

γ. Μελετώντας τον γενετικό κώδικα παρατηρούμε ότι για τα παραπάνω αμινοξέα (εκτός από αυτό της Met) υπάρχουν πολλά συνώνυμα κωδικόνια: Για τη Leu 6 και για τη Ser 6. Επομένως, με βάση τον εκφυλισμό του γενετικού κώδικα αρκετές μεταλλάξεις μπορούν να οδηγήσουν στη σύνθεση του ίδιου πεπτιδίου της ακίδας (σιωπηλές) και αυτό καθιστά το εμβόλιο ιδιαίτερα ισχυρό απέναντι σε μεταλλάξεις που μπορεί να συμβούν στο γονίδιο της πρωτεΐνης της ακίδας του ιού.

155. Στις μέρες μας, οι ερευνητές της Βιολογίας γνωρίζουν ότι υπάρχουν επιπλέον τρόποι ροής της γενετικής πληροφορίας, που δεν απεικονίζονται στο αρχικό κεντρικό δόγμα της Μοριακής Βιολογίας. Πιο συγκεκριμένα, έχουν εντοπιστεί ορισμένοι ιοί που έχουν ως γενετικό υλικό RNA και χρησιμοποιούν ένα ειδικό ένζυμο, την αντίστροφη μεταγραφάση, προκειμένου να χρησιμοποιήσουν αυτό το RNA και να συνθέσουν DNA. Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι σε άλλους RNA-ιούς, το RNA μπορεί να αυτοδιπλασιάζεται με τη βοήθεια ενός είδους RNA πολυμεράσης, που χρησιμοποιεί ως καλούπι το ίδιο το RNA (RdRp). Σύμφωνα λοιπόν, με το σύγχρονο κεντρικό δόγμα, η γενετική πληροφορία ρέει από τα νουκλεϊκά οξέα (το DNA και το RNA) προς τις πρωτεΐνες.

Στον παρακάτω πίνακα:

ΣΤΗΛΗ Α	ΣΤΗΛΗ Β
A. 5' UAAGAAUCC →...3' 3' ATTCTTAGGATTCGT 5'	1. Αντιγραφή DNA.
B. 5' CUUGTTTGG →...3' 3' GAACAAACCTAGGCC 5'	2. Μεταγραφάση.
Γ. 5' GACTGAATC →... 3' 3' CUGACUUAGCAUACG 5'	3. Αντίστροφη μεταγραφάση.
Δ. 5' ACAGCUAUU → ...3' 3' UGUCGAUAAACUAAA 5'	4. Αντιγραφή RNA ιού.

α. Να αντιστοιχίσετε τα στιγμιότυπα των διαδικασιών της στήλης Α με τις βιοχημικές πορείες της ροής της γενετικής πληροφορίας της στήλης Β, τις οποίες πιστεύετε ότι περιγράφουν (μονάδες 4).

β. Να αιτιολογήσετε συνοπτικά την απάντησή σας (μονάδες 8).

Μονάδες 12

α. Α-2, Β-1, Γ-3, Δ-4

β. Α-2, η μητρική αλυσίδα είναι η κάτω αλυσίδα, η οποία είναι DNA και οδηγεί στη σύνθεση RNA.

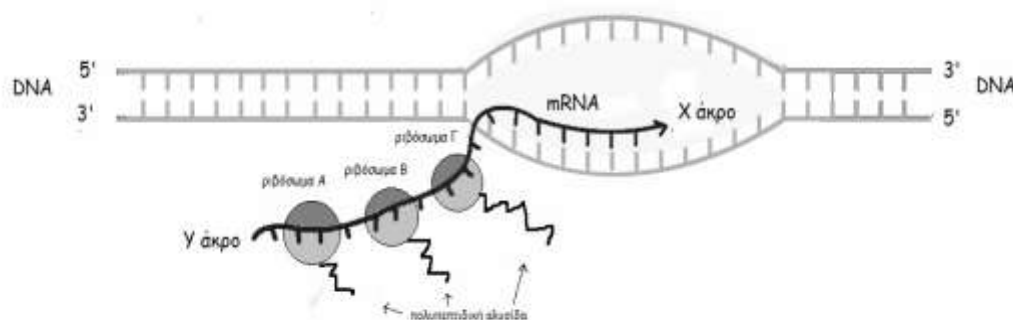
Β-1, η μητρική αλυσίδα είναι DNA και οδηγεί στη σύνθεση μιας αλυσίδας, της οποίας το αρχικό τμήμα αποτελείται από ριβονουκλεοτίδια και το υπόλοιπο από δεσοξυριβονουκλεοτίδια.

Πρόκειται για ένα στιγμιότυπο της αντιγραφής στο οποίο υπάρχει πρωταρχικό τμήμα, το οποίο έχει επιμηκυνθεί από τη DNA πολυμεράση.

Γ-3, η μητρική αλυσίδα είναι RNA και οδηγεί στη σύνθεση μιας αλυσίδας DNA.

Δ-4, η μητρική αλυσίδα είναι RNA και οδηγεί στη σύνθεση μιας αλυσίδας RNA.

163. Στην παρακάτω εικόνα απεικονίζεται ένα στιγμιότυπο της μεταγραφής ενός γονιδίου και της μετάφρασης ενός παραγόμενου μορίου mRNA.



α. Να εξηγήσετε αν αυτό το στιγμιότυπο αφορά προκαρυωτικό ή ευκαρυωτικό οργανισμό (μονάδες 2) και να αντιστοιχίσετε το 5' και 3' άκρο με τα Χ και Υ άκρα στο μόριο mRNA (μονάδες 2) αιτιολογώντας την απάντησή σας (μονάδες 2).

β. Τα ριβοσώματα Α, Β, Γ τοποθετήθηκαν διαφορετική χρονική στιγμή στο μόριο mRNA. Να εξηγήσετε με ποια σειρά τοποθετήθηκαν (μονάδες 4) και να ονομάσετε το σύμπλεγμα ριβοσωμάτων και mRNA που απεικονίζεται στην παραπάνω εικόνα (μονάδα 1). Να εξηγήσετε ποιο ρόλο εξυπηρετεί το σύμπλεγμα αυτό στο κύτταρο (μονάδες 2).

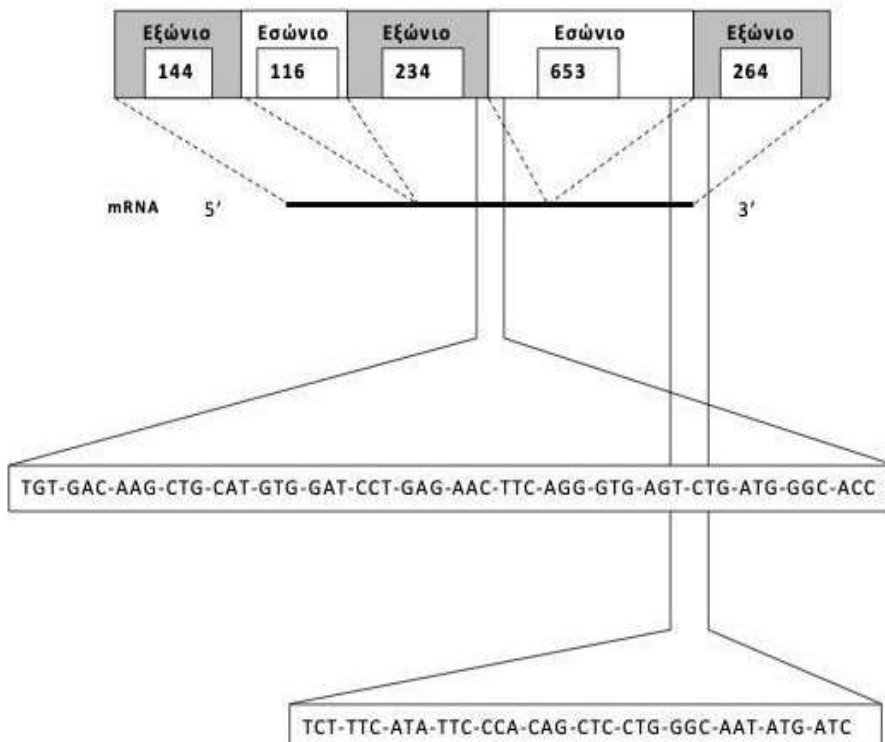
Μονάδες 13

α. Το στιγμιότυπο της εικόνας αφορά προκαρυωτικό οργανισμό καθώς το mRNA αρχίζει να μεταφράζεται σε πρωτεΐνη πριν ακόμη ολοκληρωθεί η μεταγραφή του. Αυτό είναι δυνατό, επειδή δεν υπάρχει πυρηνική μεμβράνη και το mRNA που παράγεται δεν χρειάζεται ωρίμανση. Το Υ άκρο αντιστοιχεί στο 5' άκρο και το Χ άκρο στο 3'. Το mRNA παράγεται με καλούπι την μεταγραφόμενη αλυσίδα του DNA (μη κωδική) με προσανατολισμό 5'→3'. Ενώ όμως είναι σε εξέλιξη η σύνθεση του mRNA με τη βοήθεια της RNA πολυμεράσης και καλούπι τη μεταγραφόμενη αλυσίδα του DNA (προς το 3' άκρο που βρίσκεται η αλληλουχία λήξης της μεταγραφής), το 5' άκρο του mRNA είναι διαθέσιμο στα ριβοσώματα για να ξεκινήσει η μετάφραση.

β. Τα ριβοσώματα Α, Β, Γ τοποθετήθηκαν διαφορετική χρονική στιγμή στο μόριο mRNA. Πρώτο, χρονικά, τοποθετήθηκε το Γ, μετά το Β και τελευταίο το Α. Το ριβόσωμα Γ βρίσκεται πιο μακριά από το 5' άκρο του mRNA και έχει μεγαλύτερη αναπτυσσόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα καθώς έχει "διαβάσει" περισσότερα κωδικόνια του mRNA. Το Α ριβόσωμα βρίσκεται ακόμα στην αρχή του 5' άκρου του mRNA (όπου σχηματίζεται το σύμπλοκο έναρξης της πρωτεϊνοσύνθεσης) και ξεκινάει τελευταίο τη μετάφραση. Πολλά ριβοσώματα μπορούν να μεταφράζουν ταυτόχρονα ένα mRNA, το καθένα σε διαφορετικό σημείο κατά μήκος του μορίου. Αμέσως μόλις το ριβόσωμα έχει μεταφράσει τα πρώτα κωδικόνια, η θέση έναρξης του mRNA είναι ελεύθερη για την πρόσδεση ενός άλλου ριβοσώματος. Το σύμπλεγμα των ριβοσωμάτων με mRNA ονομάζεται πολύσωμα. Έτσι, η πρωτεϊνοσύνθεση είναι μια «οικονομική διαδικασία». Ένα κύτταρο μπορεί να παραγάγει με αυτόν τον τρόπο μεγάλα ποσά μιας πρωτεΐνης από ένα ή από δύο αντίγραφα ενός γονιδίου.

164. Στο σχήμα που ακολουθεί απεικονίζεται το γονίδιο της β-σφαιρίνης του ποντικού (*Mus musculus*), που αποτελείται από τρία εξώνια και δύο εσώνια. Οι αριθμοί αντιστοιχούν στα ζεύγη βάσεων του DNA του γονιδίου. Δίνονται για δύο τμήματα του γονιδίου αυτού οι αλληλουχίες

ες των νουκλεοτιδίων της κωδικής αλυσίδας, καθώς και ο γενετικός κώδικας. Δεν αναγράφονται στο mRNA και στο DNA οι 5' και 3' αμετάφραστες περιοχές.



α. Να αναφέρετε τον αριθμό των αμινοξέων από τα οποία αποτελείται συνολικά η β-σφαιρίνη του ποντικού, χωρίς να αιτιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 2). Αν το τελευταίο κωδικόνιο του δεύτερου εξωνίου είναι το υπ' αριθμόν 126 (αριθμώντας από το πρώτο κωδικόνιο του πρώτου εξωνίου) και αντιστοιχεί στο αμινοξύ αργινίνη, να βρείτε στην πρώτη αλληλουχία νουκλεοτιδίων που σας δίνεται, τις αριθμητικές θέσεις στην πεπτιδική αλυσίδα των αμινοξέων λυσίνη και προλίνη που προηγούνται της αργινίνης (μονάδες 2), αιτιολογώντας την απάντησή σας (μονάδες 2).

β. Αν η μεθειονίνη είναι το υπ' αριθμόν 131, από τα συνολικά αμινοξέα της β-σφαιρίνης και κωδικοποιείται από κωδικόνιο που εντοπίζεται στο τρίτο εξώνιο του γονιδίου αυτού, να γράψετε την αλληλουχία του τέλους του δεύτερου εσωνίου στο τμήμα που δίνεται (μονάδες 2) και να αιτιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 4).

Στη συνέχεια, παρατίθεται ο γενετικός κώδικας:

		Δεύτερο γράμμα					
		U	C	A	G		
Πρώτο γράμμα	U	UUU } Φαινυλαλανίνη (phe)	UCU	UUA } Τυροσίνη (tyr)	UGU } κυστεΐνη (cys)	U C A G	Τρίτο γράμμα
		UUC	UCC } Σερίνη (ser)		UGC		
		UUA } Λευκίνη (leu)	UCA	UAA } Λήξη Λήξη	UGA } Λήξη		
		UUG	UCG	UAG	UGG } Τρυπτοφάνη (trp)		
C	CUU	CCU	CAU } Ιστιδίνη (his)	CGU } Αργινίνη (arg)	U C A G	Τρίτο γράμμα	
	CUC	CCC } Προλίνη (pro)	CAC	CGC			
	CUA	CCA	CAA } Γλοταμίνη (gln)	CGA			
	CUG	CCG	CAG	CGG			
A	AUU	ACU } Ισολευκίνη (ile)	AAU } Ασπαραγίνη (asn)	AGU } Σερίνη (ser)	U C A G	Τρίτο γράμμα	
	AUC	ACC	AAC	AGC			
	AUA	ACA	AAA } Λυσίνη (lys)	AGA } Αργινίνη (arg)			
	AUG	ACG } Μεθειονίνη (met) έναρξη	AAG	AGG			
G	GUU	GCU	GAU } Ασπαρτικό οξύ (asp)	GGU } Γλυκίνη (gly)	U C A G	Τρίτο γράμμα	
	GUC	GCC } Αλανίνη (ala)	GAC	GCC			
	GUA	GCA	GAA } γλουταμινικό οξύ (glu)	GGA			
	GUG	GCG	GAG	GGG			

α. Με βάση την εικόνα, το ώριμο mRNA της β σφαιρίνης θα περιέχει $144+234+264=642$ νουκλεοτίδια, τα οποία αντιστοιχούν σε 214 κωδικόνια. Από αυτά, τα 213 κωδικοποιούν αμινοξέα (το τελευταίο αποτελεί κωδικόνιο λήξης). Με βάση το γενετικό κώδικα, το αμινοξύ αργινίνη κωδικοποιείται από το κωδικόνιο AGG (126). Αυτό προκύπτει και αν αθροίσουμε τα νουκλεοτίδια του 1ου και 2ου εξωνίου ($144+234$) και τα διαιρέσουμε με το τρία, αφού 3 νουκλεοτίδια κωδικοποιούν για ένα αμινοξύ (κωδικόνιο). Μετά ακολουθεί η αρχή του δεύτερου εσωνίου. Διαβάζοντας συνεχώς, μη επικαλυπτόμενα, με βήμα τριπλέτας το mRNA, με οδηγό τη θέση του αμινοξέος αργινίνη, τα αμινοξέα λυσίνη και προλίνη θα βρίσκονται στις θέσεις 117 και 122 αντίστοιχα.

TGT-GAC-AAG-CTG-CAT-GTG-GAT-CCT-GAG-AAC-TTC-AGG-GTG-AGT-CTG-ATG-GGC-ACC
 117 122 126 (αρχή 2^{ου} εσωνίου)

β. Γνωρίζοντας ότι η θέση 126 αποτελεί το τέλος του 2^{ου} εξωνίου, το τρίτο εξωνιο θα ξεκινά από το αμινοξύ 127. Η μεθειονίνη βρίσκεται στη θέση 131 του τρίτου εξωνίου, άρα το τέλος του 2^{ου} εσωνίου θα έχει την εξής αλληλουχία (στην κωδική αλυσίδα): 5' TCT-TTC-ATA-TTC-CCA- CAG 3'. Πιο αναλυτικά θα είναι:

5' TCT-TTC-ATA-TTC-CCA-CAG-CTC-CTG-GGC-AAT-ATG-ATC 3'
 (τέλος 2^{ου} εσωνίου) 127 131.

169. Μετά την ολοκλήρωση του προγράμματος αλληλούχισης του ανθρώπινου γονιδιώματος ολοένα και περισσότερα πρωτόκολλα αλληλούχισης DNA (προσδιορισμού της αλληλουχίας της πρωτοταγούς διάταξης) από διάφορα είδη κυττάρων και οργανισμών ή ακόμη και γενετικού υλικού από ιούς υλοποιούνται σε εργαστήρια Μοριακής Βιολογίας ανά τον κόσμο καθημερινά, στα πλαίσια μιας εργαστηριακής “ρουτίνας”. Από ένα αντίστοιχο πρωτόκολλο αλληλούχισης του γενετικού υλικού ενός στελέχους βακτηρίου προέκυψε και η παρακάτω αλληλουχία DNA.
 PO₄--TTTCCAATGAGTAAAAAAAACGTAAGTATGGGTT-- OH

α. Ξέροντας ότι το παραπάνω τμήμα DNA ανήκει σε ένα προκαρυωτικό γονίδιο, το οποίο κωδικοποιεί για πεπτίδιο, να εξηγήσετε αν η δοθείσα αλυσίδα είναι η κωδική ή η μη κωδική του γονιδίου και να γράψετε το mRNA που παράγεται από την μεταγραφή του (μονάδες 4). Να υπολογίσετε τον αριθμό των αμινοξέων που θα συγκροτούν το παραγόμενο ολιγοπεπτίδιο μετά την μετάφραση του mRNA μορίου (μονάδες 2).

β. Τελικά βρέθηκε ότι το γονίδιο αυτό αποτελεί το μοναδικό γονίδιο ανθεκτικότητας ενός είδους πλασμιδίων, το οποίο προσδίδει αντοχή στο αντιβιοτικό αμπικιλίνη στα βακτήρια που το φέρουν. Ένας μεταπτυχιακός φοιτητής σκέφτεται να πραγματοποιήσει κατασκευή γονιδιωματικής βιβλιοθήκης ενός ιού, με τη χρήση των συγκεκριμένων πλασμιδίων, ως φορείς κλωνοποίησης, και να κόψει τόσο τους φορείς, όσο και το γονιδίωμα του ιού με την περιοριστική ενδο-νουκλεάση EcoRI. Ως ξενιστές θα χρησιμοποιήσει βακτήρια χωρίς ανθεκτικότητα στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό. Γνωρίζει ότι τα πλασμίδια κόβονται σε μία θέση από το ένζυμο αυτό, αλλά δεν γνωρίζει που βρίσκεται αυτή η θέση. Να εξηγήσετε αν θεωρείτε κατάλληλα αυτά τα πλασμίδια και να διερευνήσετε τυχόν πρόσθετες προϋποθέσεις που πρέπει να πληροί ένα πλασμίδιο για να θεωρηθεί κατάλληλο ως φορέας κλωνοποίησης (μονάδες 7).

Μονάδες 13

α. Από την παρουσία ελεύθερης φωσφορικής ομάδας στο ένα άκρο διαπιστώνουμε ότι θα αποτελεί το 5' ελεύθερο άκρο του, ενώ το άλλο άκρο θα είναι, αντίστοιχα, το 3' ελεύθερο άκρο του κλώνου DNA. Οπότε η αλληλουχία έχει προσανατολισμό:

5'--TTTCCAA-ATG-AGT- AAA-AAA-AAA-ACG-TAA-GTATGGGTT--3'.

Για να διαπιστώσουμε αν η δοθείσα αλυσίδα DNA είναι η κωδική αλυσίδα του γονιδίου, αναζητούμε την τριπλέτα νουκλεοτιδίων ATG διαβάζοντας το μόριο με κατεύθυνση 5'→3', έτσι ώστε να προκύψει ένα μόριο mRNA με το κωδικόνιο έναρξης της μετάφρασης 5' AUG 3', όταν η RNA πολυμεράση τοποθετήσει συμπληρωματικά ριβονουκλεοτίδια ως προς τη μη κωδική (μεταγραφόμενη) αλυσίδα. Επίσης, αναζητούμε και μία τριπλέτα που να αντιστοιχεί, κατά τον ίδιο τρόπο σε ένα από τα τρία κωδικόνια λήξης της μετάφρασης δηλ. UGA, UAG ή UAA με προσανατολισμό 5'→3'. Διαπιστώνουμε ότι στη δοθείσα αλυσίδα υπάρχει η τριπλέτα 5' ATG 3' στην αρχή του μορίου και μετά από 6 συνεχόμενες, μη επικαλυπτόμενες τριπλέτες νουκλεοτιδίων υπάρχει και η τριπλέτα 5' TAA 3' που αντιστοιχεί στο κωδικόνιο λήξης 5' UAA 3'. Αντίθετα, τα κωδικόνια αυτά δεν εντοπίζονται στη συμπληρωματική της. Άρα η δοθείσα αλυσίδα DNA είναι η κωδική και η αλληλουχία του μορίου mRNA που θα προκύψει θα είναι:

5'-- UUUCCAA-AUG-AGU-AAA-AAA-AAA-ACG-UAA-GUAUGGGUU--3'. Έτσι, από τη μετάφραση του παραπάνω μορίου προκύπτει ένα ολιγοπεπτίδιο με 6 αμινοξέα καθώς από τις 7 τριπλέτες νουκλεοτιδίων που αντιστοιχούν στα 7 κωδικόνια, το τελευταίο κωδικόνιο λήξης της μετάφρασης 5' UAA 3' δεν αντιστοιχεί σε αμινοξύ.

β. Για να απαντήσουμε αν το συγκεκριμένο πλασμίδιο είναι κατάλληλο πρέπει να ελέγξουμε αν θα κοπεί από την περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI, μέσα στο γονίδιο ανθεκτικότητας. Το δίκλωνο τμήμα:

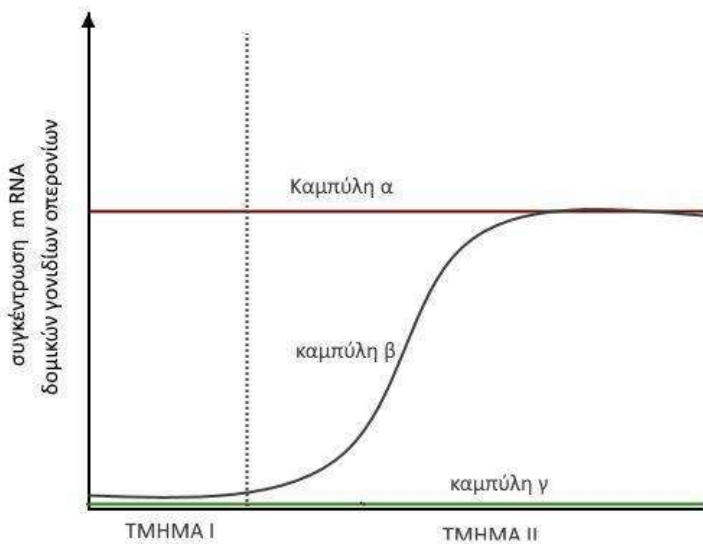
5' TTTCCAA-ATG-AGT-AAA-AAA-AAA-ACG-TAA-GTATGGGTT 3'

3' AAAGGTT-TAC-TCA-TTT- TTT- TTT- TGC- ATT-CATACCCAA 5'

δεν φέρει την δίκλωνη αλληλουχία αναγνώρισης του ενζύμου, δηλαδή την αλληλουχία 5'GAATTC3' και τη συμπληρωματική της. Επομένως, μετά την πέψη με την περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI, δεν θα κοπεί το γονίδιο που κωδικοποιεί το πεπτίδιο αντοχής στο αντιβιοτικό αμπικιλίνη, το οποίο αποτελεί και το μοναδικό γονίδιο ανθεκτικότητας του πλασμιδίου. Άρα, τα πλασμίδια είναι κατάλληλα ως φορείς κλωνοποίησης, ως προς την προϋπόθεση αυτή. Ωστόσο, θα πρέπει επιπρόσθετα να ελεγχθεί αν το πλασμίδιο κόβεται από την EcoRI σε άλλη σημαντική θέση όπως είναι η θέση έναρξης της αντιγραφής, καθώς και αν, με τον τρόπο που κόβει, επιτρέπει την επιλογή των ανασυνδυασμένων πλασμιδίων από τα μη ανασυνδυασμένα, στα μετασχηματισμένα βακτήρια.

175. Επιστημονικές έρευνες με μεταλλαγμένους οργανισμούς στο εργαστήριο, όπως με τη μύγα *Drosophila melanogaster* από τον Τόμας Χαντ Μόργκαν ή με το βακτήριο *E.coli*, από τους Φρανσουά Ζακόμπ και Ζακ Μονό, οδήγησε τους επιστήμονες αυτούς στην κατάκτηση του βραβείου Νόμπελ, για τη χρωμοσωμική θεωρία της κληρονομικότητας και για τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης αντίστοιχα.

Στο γράφημα που ακολουθεί απεικονίζεται η συγκέντρωση του mRNA των δομικών γονιδίων, σε θρεπτικό υλικό που περιέχει αρχικά γλυκόζη (τμήμα I) και στη συνέχεια, αφού εξαντλήθηκε η γλυκόζη, προστέθηκε μόνο λακτόζη (τμήμα II) για τρία στελέχη *E.coli*. Το ένα στέλεχος *E.coli* είναι φυσιολογικό και τα υπόλοιπα δύο στελέχη είναι μεταλλαγμένα.



- α. Να αναφέρετε ποια καμπύλη περιγράφει τη συγκέντρωση του mRNA στο φυσιολογικό στέλεχος *E.coli* (μονάδες 2) και να ερμηνεύσετε τη μορφή της καμπύλης (μονάδες 4).
 β. Να περιγράψετε τη μορφή των καμπυλών για τα δύο μεταλλαγμένα στελέχη (μονάδες 2) και να προτείνετε από δύο μεταλλάξεις για το κάθε στέλεχος που να ερμηνεύει τη μορφή της αντίστοιχης καμπύλης (μονάδες 4).

Μονάδες 12

α. Στο φυσιολογικό στέλεχος *E.coli* αντιστοιχεί η καμπύλη β. Σε περιβάλλον με γλυκόζη (τμήμα I του διαγράμματος) η συγκέντρωση του mRNA των δομικών γονιδίων είναι μηδενική (το οπερόνιο βρίσκεται σε καταστολή). Μετά την προσθήκη της λακτόζης (τμήμα II του διαγράμματος) η συγκέντρωση του mRNA αυξάνεται προοδευτικά υποδεικνύοντας τη συνεχή μεταγραφή του από τα δομικά γονίδια, ώστε το βακτήριο να μπορεί να διασπάσει τη λακτόζη (επαγωγή οπερονίου από την ίδια τη λακτόζη).

β. Στο στέλεχος α η συγκέντρωση του mRNA των δομικών γονιδίων είναι σταθερή στο ανώτερο δυνατό επίπεδο, τόσο όταν απουσιάζει η λακτόζη (μη αναμενόμενο φυσιολογικά), όσο και παρουσία μόνο λακτόζης (αναμενόμενο), γεγονός που υποδηλώνει ότι το οπερόνιο της λακτόζης είναι συνεχώς ενεργό. Στο στέλεχος γ η συγκέντρωση του mRNA των δομικών γονιδίων είναι σταθερή στο κατώτερο δυνατό επίπεδο τόσο όταν απουσιάζει η λακτόζη (αναμενόμενο), όσο και παρουσία μόνο λακτόζης (μη αναμενόμενο φυσιολογικά), που υποδηλώνει ότι το οπερόνιο της λακτόζης είναι συνεχώς ανενεργό.

Για να είναι συνεχώς ενεργό το οπερόνιο της λακτόζης στο στέλεχος α σημαίνει ότι η πρωτεΐνη καταστολέας δεν μπορεί να συνδεθεί στο χειριστή, είτε διότι υπάρχει μετάλλαξη στο χειριστή, είτε διότι υπάρχει μετάλλαξη στο ρυθμιστικό γονίδιο και η πρωτεΐνη καταστολέας δεν είναι λειτουργική.

Για να είναι συνεχώς ανενεργό το οπερόνιο της λακτόζης στο στέλεχος γ σημαίνει ότι, είτε η πρωτεΐνη καταστολέας είναι συνεχώς συνδεδεμένη στο χειριστή, διότι υπάρχει μετάλλαξη στο ρυθμιστικό γονίδιο που οδηγεί σε πρωτεΐνη καταστολέα η οποία δεν μπορεί να συνδεθεί με τον επαγωγέα, είτε ότι υπάρχει μετάλλαξη στον υποκινητή των δομικών γονιδίων και δεν μπορεί να συνδεθεί η RNA πολυμεράση προκειμένου να μεταγράψει τα δομικά γονίδια.

176. Η κυστεΐνη αποτελεί το ένα από τα δύο αμινοξέα των ζωντανών οργανισμών, τα οποία στην πλευρική τους ομάδα περιέχουν άτομο θείου (-S-), το οποίο μπορεί να δημιουργεί δι-σουλφιδικούς δεσμούς (δεσμοί ανάμεσα σε άτομα S) με γειτονικά αμινοξέα κυστεΐνης στην

πολυπεπτιδική αλυσίδα. Το δεύτερο αμινοξύ είναι η μεθειονίνη, της οποίας όμως τα άτομα θείου (-S-) της πλευρικής τους ομάδας δεν μπορούν να δημιουργούν δισουλφιδικούς δεσμούς.

α. Να εξηγήσετε κάτω από ποιες προϋποθέσεις μια πρωτεΐνη, η οποία δεν περιέχει αμινοξέα κυστεΐνης, μπορεί να είναι ιχνηθετημένη με ραδιενεργό θείο (³⁵S) (μονάδες 4) και να αναφέρετε μια πρωτεΐνη στη στερεοδιάταξη της οποίας αναπτύσσονται δισουλφιδικοί δεσμοί (μονάδες 2).

β. Το τμήμα DNA που σας δίνεται περιέχει συνεχές γονίδιο που κωδικοποιεί πολυπεπτιδική αλυσίδα, στην τριτοταγή δομή της οποίας αναπτύσσονται δισουλφιδικοί δεσμοί.

Αλυσίδα I: TGCGTTAGCAATGCCAGCAACTACATTTACAGCCTGAGAACATCCTTATA

Αλυσίδα II: ACGCAATCGTTACGGTCGTTGATGTAAATGTCGGACTCTTGTAAGGAATAT

Να εξηγήσετε ποια είναι η κωδική και ποια η μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου (μονάδες 4) και να αντιστοιχίσετε τα 5' και 3' άκρα των αλυσίδων (μονάδα 1). Να γράψετε την αλληλουχία των αμινοξέων του πεπτιδίου (μονάδες 2).

Μονάδες 13

		Δεύτερο γράμμα				
		U	C	A	G	
Πρώτο γράμμα	U	UUU } φαινυλαλανίνη UUC } (phe) UUA } λευκίνη UUG } (leu)	UCU } UCC } σερίνη UCA } (ser) UCG }	UAU } τυροσίνη UAC } (tyr) UAA } λήξη UAG } λήξη	UGU } κυστεΐνη UGC } (cys) UGA } λήξη UGG } τρυπτοφάνη (trp)	U C A G
	C	CUU } CUC } λευκίνη CUA } (leu) CUG }	CCU } CCC } προλίνη CCA } (pro) CCG }	CAU } ιστιδίνη CAC } (his) CAA } γλουταμίνη CAG } (gln)	CGU } CGC } αργινίνη CGA } (arg) CGG }	U C A G
	A	AUU } ισολευκίνη AUC } (ile) AUA } AUG } μεθειονίνη (met) έναρξη	ACU } ACC } θρεονίνη ACA } (thr) ACG }	AAU } ασπαραγίνη AAC } (asn) AAA } λυσίνη AAG } (lys)	AGU } σερίνη AGC } (ser) AGA } αργινίνη AGG } (arg)	U C A G
	G	GUU } GUC } βολίνη GUA } (val) GUG }	GCU } GCC } αλανίνη GCA } (ala) GCG }	GAU } ασπαρτικό οξύ GAC } (asp) GAA } γλουταμικό οξύ GAG } (glu)	GGU } GGC } γλυκίνη GGA } (gly) GGG }	U C A G

α. Το πρώτο κωδικόνιο του mRNA είναι πάντοτε 5' AUG 3' και σ' αυτό προσδέεται το tRNA που φέρει το αμινοξύ μεθειονίνη. Όμως δεν έχουν όλες οι πρωτεΐνες του οργανισμού ως πρώτο αμινοξύ μεθειονίνη. Αυτό συμβαίνει γιατί, σε πολλές πρωτεΐνες, μετά τη σύνθεσή τους απομακρύνονται ορισμένα αμινοξέα από το αρχικό αμινικό άκρο τους. Στην περίπτωση, λοιπόν, που δεν έχει απομακρυνθεί η εναρκτήρια μεθειονίνη, μία πρωτεΐνη μπορεί να ιχνηθετηθεί με ραδιενεργό ³⁵S μόνο λόγω αυτής. Αν έχει αφαιρεθεί η εναρκτήρια μεθειονίνη, προϋπόθεση για να μπορεί να ιχνηθετηθεί με ³⁵S είναι να υπάρχει μεθειονίνη στην αλληλουχία των αμινοξέων της. Πρωτεΐνη που στο μόριό της αναπτύσσονται δισουλφιδικοί δεσμοί αποτελεί η ινσουλίνη (εναλλακτικά το μόριο αντισώματος).

β. Κωδική αλυσίδα του γονιδίου είναι η αλυσίδα II διότι από δεξιά προς τα αριστερά, στην κατεύθυνση 5' ← 3' υπάρχει κωδικόνιο έναρξης και κωδικόνιο λήξης (φαίνονται γραμμοσκιασμένα), ενώ μεταξύ των κωδικονίων περιέχονται και κωδικόνια της κυστεΐνης (φαίνονται υπογραμμισμένα), όπως απεικονίζεται παρακάτω:

Αλυσίδα I:

5' TGCGTTAGCAATGCCAGCAACTACATTTACAGCCTGAGAACATCCTTATA 3'

Αλυσίδα II:

3' ACGCAATCGTTACGGTCGTTGATGTAAATGTCGGACTCTTGTAAGGAATAT 5'

Αντίθετα, η αλυσίδα I, ενώ περιέχει επίσης στην κατεύθυνση 5' → 3' κωδικόνιο έναρξης και κωδικόνιο λήξης (διαβάζοντας τα κωδικόνια ανά τρία, συνεχώς και μη επικαλυπτόμενα όπως ορί-

ζει ο γενετικός κώδικας), δεν περιέχει κωδικόνια κυστεΐνης. Η αλληλουχία των αμινοξέων είναι:

H₂N—met – phe – ser – gly – cys – lys – cys – ser – cys – trp – asp – cys – COOH.

180. Η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας βάσεων του DNA πιστεύεται ότι θα μας βοηθήσει να κατανοήσουμε πώς δομείται και λειτουργεί ο ανθρώπινος οργανισμός. Για τη μελέτη της εξέλιξης του ανθρώπινου γονιδιώματος βρίσκονται παράλληλα σε εξέλιξη προγράμματα προσδιορισμού της αλληλουχίας άλλων ειδών, τα οποία θα συμβάλουν στην αποκάλυψη των εξελικτικών σχέσεων που υπάρχουν μεταξύ των ειδών. Η ακόλουθη αλληλουχία, που μελετάται σε ένα εργαστήριο μοριακής βιολογίας, περιλαμβάνει ένα τμήμα ασυνεχούς γονιδίου το οποίο κωδικοποιεί την παραγωγή ενός ολιγοπεπτιδίου:

A	C	A	C	A	A	A	T	G	T	T	A	A	C	A	C	A	G	T	C	C	G	G	A	A	G	G	G	A	A	T	C	A	T	G	A	C	C	G	T	I		
T	G	T	G	T	T	T	A	C	A	A	T	T	T	G	T	G	T	C	A	G	G	C	C	T	T	C	C	C	T	T	T	A	G	T	A	C	T	G	G	C	A	II

Τα tRNA που χρησιμοποιήθηκαν κατά σειρά στην παραγωγή του ολιγοπεπτιδίου είχαν αντικωδικόνια: 3'UAC^{5'}, 3'AAA^{5'}, 3'GGC^{5'}, 3'CUU^{5'}, 3'UUU^{5'}, 3'AGU^{5'}.

α. Να προσδιορίσετε και να αιτιολογήσετε ποιος είναι ο κωδικός και ποιος ο μη κωδικός κλώνος του γονιδίου (μονάδες 4).

β. Να εξηγήσετε αν το mRNA που παράγεται από τη μεταγραφή του εν λόγω γονιδίου έχει υποστεί τροποποίηση και αν ναι, να προσδιορίσετε στο γονίδιο τις αλληλουχίες που συνιστούν το/-α εσώνιο/-α και το/-α εξώνιο/-ά του (δίνεται ότι οι 5' και 3' αμετάφραστες περιοχές ανήκουν στο 1ο και τελευταίο εξώνιο αντίστοιχα) (μονάδες 5).

γ. Η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος, εκτός από τη μελέτη της εξέλιξης του ανθρώπινου γονιδιώματος, θα συμβάλει και σε άλλους πολύ σημαντικούς τομείς που σχετίζονται με τη βελτίωση της ζωής και της υγείας του ανθρώπου. Να περιγράψετε δύο από αυτούς τους τομείς (μονάδες 4).

Μονάδες 13

α. Ο κλώνος που αποτελεί τον κωδικό κλώνο της αλληλουχίας είναι ο κλώνος I, ενώ ο μη κωδικός είναι ο II με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας και της αντιπαράλληλης των αλυσίδων. Αυτό συμβαίνει διότι στον κλώνο I συναντάμε το κωδικόνιο, 5'ATG^{3'} που αντιστοιχεί στο κωδικόνιο έναρξης 5'AUG^{3'} του mRNA καθώς και τα κωδικόνια 5'TTT^{3'}, 5'CCG^{3'}, 5'GAA^{3'}, 5'AAA^{3'}, 5'TCA^{3'} τα οποία είναι υπεύθυνα για την δημιουργία των κωδικονίων του mRNA 5'UUU^{3'}, 5'CCG^{3'}, 5'GAA^{3'}, 5'AAA^{3'}, 5'UCA^{3'}, αντίστοιχα. Αυτά τα κωδικόνια του mRNA είναι συμπληρωματικά και αντιπαράλληλα στα αντικωδικόνια 3'UAC^{5'}, 3'AAA^{5'}, 3'GGC^{5'}, 3'CUU^{5'}, 3'UUU^{5'}, 3'AGU^{5'} της μη κωδικής αλυσίδας. Μετά τα κωδικόνια που κωδικοποιούν το ολιγοπεπτίδιο, τα οποία διαβάζονται συνεχώς και μη επικαλυπτόμενα όπως ορίζει ο γενετικός κώδικας (παραλείποντας όμως τα εσώνια), συναντάμε στον κλώνο I το κωδικόνιο λήξης 5'TGA^{3'} που αντιστοιχεί στο κωδικόνιο λήξης του mRNA 5'UGA^{3'}.

β. Το mRNA που παράγεται έχει υποστεί τροποποιήσεις και συγκεκριμένα υπάρχουν δύο εσώνια που είναι οι υπογραμμισμένες περιοχές στους δύο κλώνους. Τα εξώνια αντιστοιχούν στην υπόλοιπη αλληλουχία.

5' ACACAAAATGTT AAACACAGT CCGGAAGGG AAA TCA TGACCGT3' I
3' TGTGTTTT ACAA TTTGTGTCA GGCCTT CCC TTT AGT ACTGGCA5' II

γ. Η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος έχει συμβάλει, αρχικά, στη μελέτη της οργάνωσης

και λειτουργίας του ανθρώπινου γονιδιώματος. Μετά την ολοκλήρωση του προγράμματος προσδιορίστηκαν το σύνολο των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, οι ρυθμιστικές περιοχές των γονιδίων αυτών, καθώς και οι 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.

Μια δεύτερη συμβολή της αποκρυπτογράφησης του ανθρώπινου γονιδιώματος αφορά 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.

(Εναλλακτικά: η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος θα συμβάλει στη 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).

