

ΘΕΜΑ Α

- A1. δ
- A2. δ
- A3. β
- A4. γ
- A5. α

ΘΕΜΑ Β

B1.

I	A
II	E
III	ΣΤ
IV	B
V	Z
VI	Γ
VII	Δ

B2. Η εικόνα 1 αναφέρεται σε προκαρυωτικό κύτταρο γιατί στους προκαρυωτικούς οργανισμούς το mRNA αρχίζει να μεταφράζεται σε πρωτεΐνη πριν ακόμη ολοκληρωθεί η μεταγραφή του. Αυτό είναι δυνατό, επειδή δεν υπάρχει πυρηνική μεμβράνη.

B3. Ένα επιλεγμένο αντιγόνο, δηλαδή η ορμόνη της κύησης (χοριακή γοναδοτροπίνη) χορηγείται με ένεση σε ποντίκι και προκαλεί ανοσολογική αντίδραση με αποτέλεσμα να αρχίσει η παραγωγή αντισωμάτων από εξειδικευμένα Β-λεμφοκύτταρα. Ύστερα από δύο εβδομάδες αφαιρείται ο σπλήνας και απομονώνονται τα Β-λεμφοκύτταρα. Όμως τα Β-λεμφοκύτταρα δεν επιβιώνουν για πολύ έξω από το σώμα και δεν μπορούν να διατηρηθούν σε κυτταροκαλλιέργειες. Την ιδιότητα αυτή την αποκτούν ύστερα από σύντηξη με καρκινικά κύτταρα. Τα Β-λεμφοκύτταρα συντήκονται με καρκινικά κύτταρα και παράγονται τα υβριδώματα που παράγουν μονοκλωνικά αντισώματα. Τα υβριδώματα μπορούν να φυλάσσονται για μεγάλα χρονικά διαστήματα στην κατάψυξη (-80 °C) και να παράγουν οποιαδήποτε στιγμή το συγκεκριμένο μονοκλωνικά αντίσωμα σε μεγάλες ποσότητες. Στα ειδικά διαγνωστικά τεστ περιέχονται τα μονοκλωνικά αντισώματα τα οποία συνδέονται εκλεκτικά με την παραπάνω ορμόνη. Συνεπώς η σύνδεση τους συνεπάγεται την παραγωγή της παραπάνω ορμόνης στο αίμα ή τα ούρα της γυναίκας και την εξακρίβωση της κύησης.

B4. Μία γονιδιωματική βιβλιοθήκη αποτελείται από το σύνολο των βακτηριακών κλώνων που περιέχουν το συνολικό DNA του οργανισμού δότη. Όλα τα είδη σωματικών κυττάρων ενός ανθρώπινου οργανισμού περιέχουν το ίδιο DNA. Συνεπώς οι γονιδιωματικές βιβλιοθήκες των δύο αυτών κυττάρων είναι ίδιες, περιέχουν τους ίδιους κλώνους βακτηρίων που καθένας από αυτούς έχει διαφορετικό τμήμα του DNA του οργανισμού δότη.

Οι cDNA βιβλιοθήκες περιέχουν αντίγραφα των mRNA όλων των γονιδίων που εκφράζονται στα κύτταρα αυτά και έχουν το πλεονέκτημα απομόνωσης μόνο των αλληλουχιών των γονιδίων που μεταφράζονται σε αμινοξέα, δηλαδή των εξωνίων.

Για να κατασκευαστεί μία cDNA βιβλιοθήκη, απομονώνεται το ολικό «ώριμο» mRNA που προκύπτει από τη μεταγραφή των γονιδίων που εκφράζονται στους συγκεκριμένους κυτταρικούς τύπους. Συνεπώς, για την κατασκευή μιας cDNA βιβλιοθήκης επειδή απομονώθηκαν αρχικά διαφορετικά μόρια mRNA λόγω της γονιδιακής ρύθμισης, δημιουργήθηκαν διαφορετικοί κλώνοι που περιέχουν μόνο τα γονίδια που εκφράζονται στον συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο την δεδομένη χρονική στιγμή.

υπ. Στις δύο cDNA βιβλιοθήκες θα περιέχονται όμως και κοινοί κλώνοι καθώς κάποια γονίδια εκφράζονται σε όλους τους κυτταρικούς τύπους.

ΘΕΜΑ Γ

Γ1. Το γονίδιο της α1-αντιθρυψίνης θα εκφραστεί στα κύτταρα των μαστικών αδένων του διαγονιδιακού ζώου γιατί το ξένο γονίδιο εισήχθη μέσα το γονίδιο της καζεΐνης με κατάλληλο προσανατολισμό ώστε να χρησιμοποιηθεί ο υποκινητής της καζεΐνης για την έκφραση του. Ο υποκινητής θα βρίσκεται πριν από την αρχή του γονιδίου της α1-αντιθρυψίνης. Τα κύτταρα των μαστικών αδένων του ζώου περιέχουν τον κατάλληλο συνδυασμό μεταγραφικών παραγόντων που επιτρέπουν την πρόσδεση της RNA πολυμεράσης στον συγκεκριμένο υποκινητή και συνεπώς θα μπορεί να εκφραστεί το γονίδιο της α1-αντιθρυψίνης.

υπ. Τα διαγονιδιακά ζώα ως ευκαρυωτικοί οργανισμοί μπορούν να κάνουν μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις αν χρειάζονται και ο γενετικός κώδικας είναι καθολικός.

Γ2. 5' AATCCGCAAATTA3'
3'GGCGTTTAATT5'

Η EcoRI αναγνωρίζει την παρακάτω αλληλουχία:

GAATTC

CTTAAG

και κόβει μεταξύ GA με προσανατολισμό 5' → 3' άρα τα δημιουργούνται τα παρακάτω τμήματα:

5' G-OH 3' 5' P-AATTC3'
3' CTTAA-P 5' 3' OH-G 5'

Το παραπάνω μόριο για να εισαχθεί σε κομμένο πλασμίδιο (που έχει κοπεί με την ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση μία φορά) πρέπει να φέρει μονόκλινα άκρα από αζευγάρωτες βάσεις και στα δύο άκρα του μορίου. Συνεπώς δεν επιτρέπεται ο ανασυνδυασμός του πλασμίδιου.

υπ. Αν δημιουργηθεί μονόκλινη αλυσίδα και στο άλλο άκρο με τεχνητό τρόπο θα μπορεί να κλωνοποιηθεί.

Γ3. Οι γονότυποι των ατόμων είναι:

Γ1	ii
Σ1	I ^A I ^B
Σ2	I ^A i
Π1	ii

Π2	I ^B i
----	------------------

Οι διασταυρώσεις που γίνονται είναι οι παρακάτω:

P: ii x I^AI^B

F1: I^Ai, I^Bi

Φ.Α 50% ομάδα Α 50% ομάδα Β

συνεπώς το παιδί Π2 προκύπτει από αυτούς τους γονείς (πατέρας Σ1)

P: ii x I^Ai

F1: I^Ai, ii

Φ.Α 50% ομάδα Α 50% ομάδα Ο

συνεπώς το παιδί Π1 προκύπτει από αυτούς τους γονείς (πατέρας Σ2 με γονότυπο ετερόζυγο).

Γ4. Όταν στο θρεπτικό υλικό υπάρχει λακτόζη, τότε ο ίδιος ο δισακχαρίτης προσδέεται στον καταστολέα και δεν του επιτρέπει να προσδεθεί στο χειριστή. Τότε η RNA πολυμεράση είναι ελεύθερη να αρχίσει τη μεταγραφή. Δηλαδή η λακτόζη λειτουργεί ως επαγωγέας της μεταγραφής των γονιδίων του οπερονίου. Τότε τα γονίδια αρχίζουν να «εκφράζονται», δηλαδή να μεταγράφονται και να συνθέτουν τα ένζυμα. Τα τρία ένζυμα μεταφράζονται ταυτόχρονα από το ίδιο μόριο mRNA το οποίο περιέχει κωδικόνιο έναρξης και λήξης για κάθε ένζυμο. Συμπερασματικά, η ίδια η λακτόζη ενεργοποιεί τη διαδικασία για την αποικοδόμησή της. Όταν η λακτόζη διασπαστεί πλήρως, τότε η πρωτεΐνη καταστολέας είναι ελεύθερη να προσδεθεί στο χειριστή και να καταστείλει τη λειτουργία των τριών γονιδίων.

Συνεπώς βλέπουμε στο διάγραμμα την παραγωγή του mRNA από τη μεταγραφή των τριών δομικών γονιδίων που εκφράζονται.

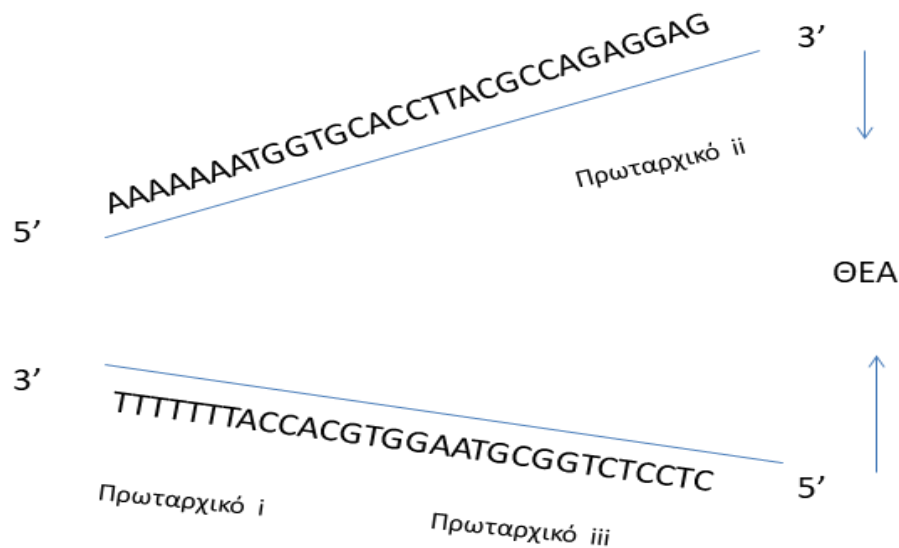
ΘΕΜΑ Δ

Δ1. Το φυσιολογικό γονίδιο είναι το III γιατί το 7^ο κωδικόνιο είναι το GAG που κωδικοποιεί φυσιολογικά το αμινοξύ γλουταμινικό οξύ. Το γονίδιο β⁵ της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας είναι το γονίδιο I γιατί το 7^ο κωδικόνιο είναι το GTG που κωδικοποιεί τη βαλίνη.

Δ2. Το γονίδιο II έχει παρουσιάζει γονιδιακή μετάλλαξη γιατί υπάρχει προσθήκη μιας κυτοσίνης στο κωδικόνιο έναρξης. Πρόκειται για μια σοβαρή μετάλλαξη που μπορεί να οδηγήσει σε μια μη λειτουργική πολυπεπτιδική αλυσίδα β ή ακόμα και στην έλλειψη της, συνεπώς θα μπορούσε να αφορά σε γονίδιο της β-θαλασσαιμίας.

Η β-θαλασσαιμία χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια, δηλαδή προκαλείται από πολλά διαφορετικά είδη γονιδιακών μεταλλάξεων όπως αντικαταστάσεις, ελλείψεις και προσθήκες βάσεων. Τα συμπτώματα της ασθένειας διαφέρουν ως προς τη βαρύτητα μεταξύ διαφόρων ατόμων και σχετίζονται με το είδος της μετάλλαξης που τα προκαλεί. Τα συμπτώματα μπορεί να κυμαίνονται από σοβαρή αναιμία (παντελής έλλειψη πολυπεπτιδικής αλυσίδας β, συνεπώς και HbA) έως λιγότερο σοβαρή αναιμία (ελάττωση σύνθεσης πολυπεπτιδικής αλυσίδας β, συνεπώς σύνθεση HbA σε πολύ μικρή ποσότητα).

Δ3.



Δ1. Η ΘΕΑ βρίσκεται στη θέση Υ

Δ2. Η αλυσίδα Α αντιγράφεται συνεχώς και η Β αλυσίδα ασυνεχώς.

Δ3 Το πρωταρχικό iii συντίθεται πρώτο στην ασυνεχή αλυσίδα.

Δ4.

P: Ββ x Ββ^S

F1:	B	β
B	BB	Bβ
β ^S	Ββ ^S	ββ ^S

Φ.Α. 25% φυσιολογικά άτομα

25% φορείς της β θαλασσαιμίας

25% φορείς της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας

25% πάσχοντες από σοβαρή αναιμία

B: φυσιολογικό αλληλόμορφο

β: μεταλλαγμένο γονίδιο της β- θαλασσαιμίας

β^S : μεταλλαγμένο γονίδιο της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας