

Διαγώνισμα στα κεφάλαια
2 (αντιγραφή, έκφραση και ρύθμιση της γενετικής πληροφορίας)
& 4 (τεχνολογία του Ανασυνδυασμένου DNA)

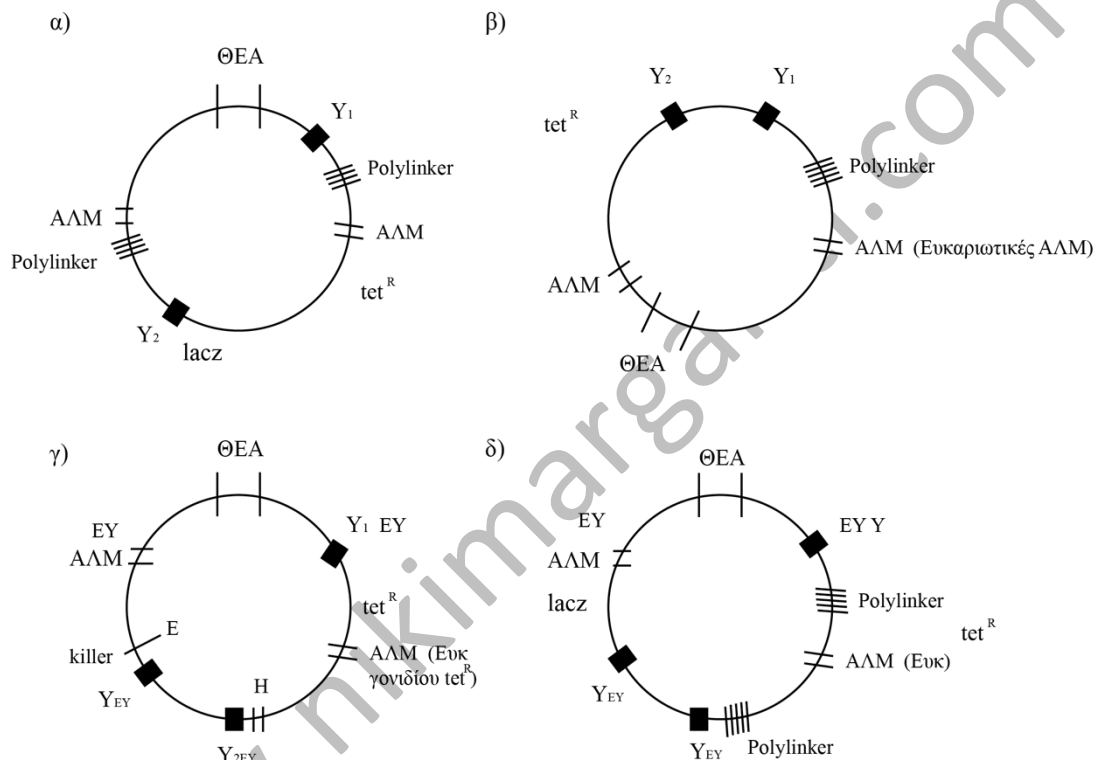
ΖΗΤΗΜΑ 1^ο

ΜΟΝΑΔΕΣ 25

A)

Μονάδες 15

1. Ποιο από τα παρακάτω πλασμίδια είναι κατάλληλο να χρησιμοποιηθεί ως φορέας κλωνοποίησης σε ζυμομύκητα, για μια cDNA βιβλιοθήκη του αλόγου;



nikimargariti.com

Υπόμνημα: όπου:

Y = Υποκινητής, ΑΛΜ= Αλληλουχίες Λήξης της Μεταγραφής, ΘΕΑ= Θέση Έναρξης της Αντιγραφής, Tet^R = γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό τετρακυκλίνη, Killer= γονίδιο που κωδικοποιεί για μια τοξική πρωτεΐνη για τον ξενιστή, lacZ = γονίδιο που κωδικοποιεί για την β-γαλακτοζιδάση, Polylinker= πολλές διαφορετικές μοναδικές διαδοχικές αλληλεπικαλυπτόμενες θέσεις περιορισμού.

Κάθε polylinker εδώ είναι διαφορετικός από τους άλλους.

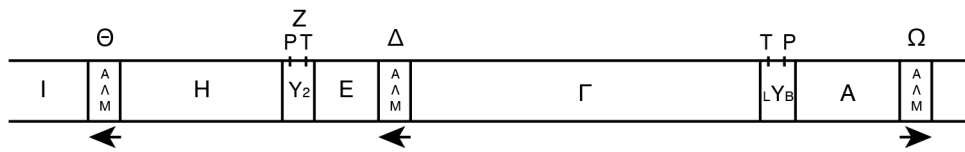
1^ο πλασμίδιο: οι υποκινητές είναι οι φυσικοί υποκινητές των αναφερομένων γονιδίων.

2^ο πλασμίδιο: ο πρώτος υποκινητής είναι γονιδίου της ζύμης, ο δεύτερος υποκινητής είναι ο φυσικός υποκινητής του γονιδίου lacZ.

3^ο πλασμίδιο: όλοι οι υποκινητές και οι ΑΛΜ ανήκουν στη ζύμη.

4^ο πλασμίδιο: οι ΑΛΜ στα δεξιά ανήκουν στο γονίδιο της ανθεκτικότητας στην τετρακυκλίνη.

2. Πόσα γονίδια υπάρχουν στο παρακάτω τμήμα γονιδιωματικής βιβλιοθήκης του βακτηρίου *Treponema Pallidum*. Ορίστε τα τμήματα που τα αποτελούν.

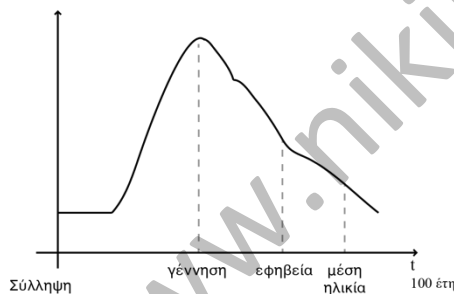


nikimargariti.com

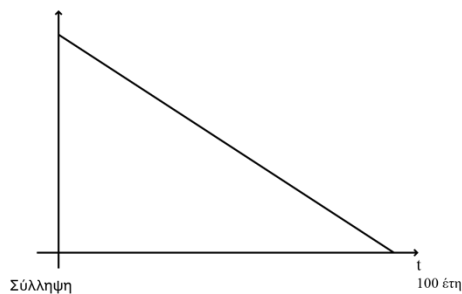
Ο Υποκινητής δεξιά είναι ο Y_1 και βρίσκεται στην περιοχή B του χρωμοσώματος. Όπου T (TATA Box) και P (Pribnow Box) συντηρημένες αλληλουχίες κοινές σε όλους τους υποκινητές.

- α) Δύο γονίδια: γονίδια: ($Y_1 : \Gamma + \Delta$, $Y_2 : E + \Delta + \Gamma + B + A + \Omega$)
 β) Δύο γονίδια: γονίδια: ($Y_1 : \Gamma + \Delta$, $Y_2 : H + \Theta$)
 γ) Δύο γονίδια: γονίδια: ($Y_1 : B + A + \Omega$, $Y_2 : Z + E + \Delta$)
 δ) Δύο γονίδια: γονίδια: ($Y_2 : H + \Theta$, $Y_1 : A + \Omega$)

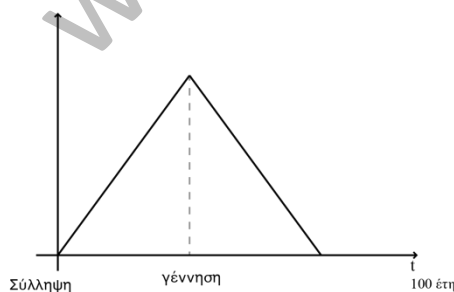
3. Ο ρυθμός της κυτταρικής διαφοροποίησης στο σύνολο του οργανισμού από την εμβρυική ηλικία μέχρι τα βαθιά γεράματα, θα μπορούσε να αποδοθεί με το γράφημα:



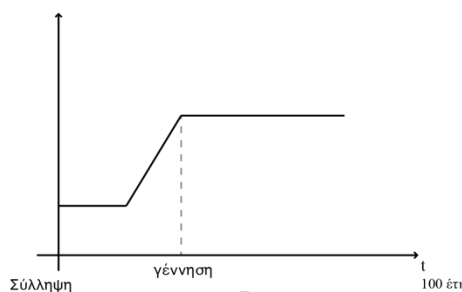
α



β



γ



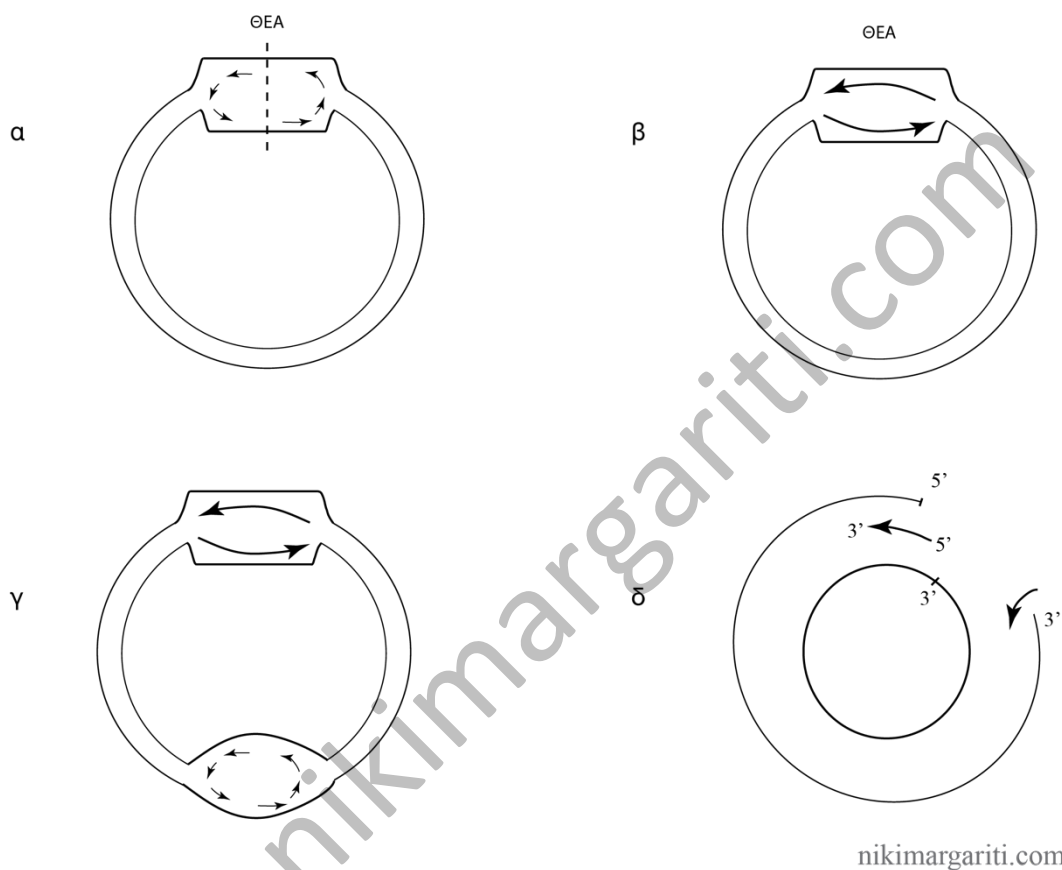
δ

nikimargariti.com

Σημείωση: Τα διαγράμματα δεν δίνονται υπό κλίμακα.

4. Η αντιγραφή ενός κυκλικού μορίου DNA, μπορεί να γίνεται σύμφωνα με ό,τι γνωρίζετε από το σχολικό βιβλίο:

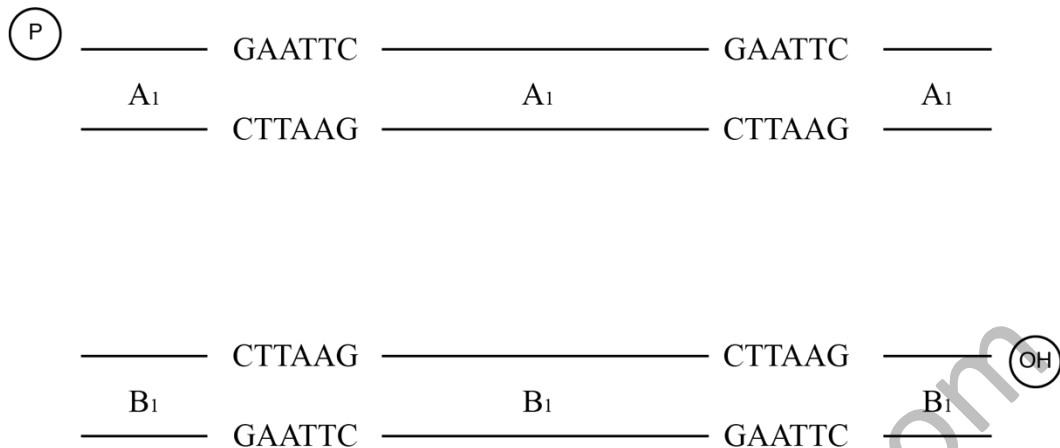
Σημείωση: στο α σχήμα εκατέρωθεν της ΘΕΑ, για κάθε δίχαλα υπάρχει κλώνος που συντίθεται συνεχώς και κλώνος που συντίθεται ασυνεχώς.



ε) Με όλους τους παραπάνω τρόπους.

στ) Με τους δύο πρώτους, αναλόγως το είδος του κυκλικού μορίου.

5. Δίνονται τα παρακάτω δύο γραμμικά μόρια DNA:



Τα μόρια DNA πέπτονται από δύο διαφορετικές Π.Ε την *EcoRI* και ένα περιοριστικό ένζυμο που αναγνωρίζει την αλληλουχία :



και κόβει μεταξύ του C και T σε κάθε κλώνο.

Εν συνεχεία τα δύο αυτά κομμένα μόρια αναμειγνύονται παρουσία του ενζύμου DNA δεσμάση.

Μπορούν να δημιουργηθούν οι συνδυασμοί:

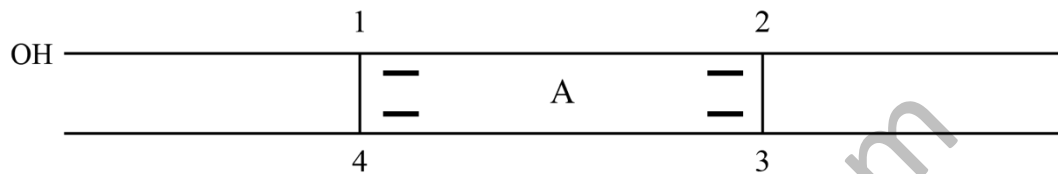
- α) $A_1 + A_3, B_1 + B_3, A_2 + B_2$
- β) $A_1 + B_3, B_1 + A_3, A_2 + B_2$
- γ) $A_1 + B_1, A_3 + B_3, A_2 + B_2$
- δ) $A_1 + A_3, B_1 + B_3$

Β) Χαρακτηρίστε ως Σ ή Λ καθεμία από τις παρακάτω προτάσεις:

Μονάδες 10

1. Σε ένα βακτήριο έχει συμβεί λάθος κατά την αντιγραφή του DNA του (κυρίως μόριο) στη ΘΕΑ, το οποίο δεν επιδιορθώθηκε και δεν αναγνωρίζεται από τις DNA ελικάσες, η μετάλλαξη αυτή είναι θνησιγόνος.
2. Σε ένα ευκαρυωτικό χρωμόσωμα έγινε το ίδιο λάθος, όπως παραπάνω, σε ένα σημείο του χρωμοσώματος, η μετάλλαξη αυτή θα είναι θανατηφόρα.

3. Τα ευκαρυωτικά χρωμοσώματα σε κάθε μίτωση είναι πιο μικρού μήκους από τα αντίστοιχα της προηγούμενης μίτωσης στην ίδια κυτταρική σειρά, αυτό συμβαίνει και με το βακτηριακό DNA.
4. Στο παρακάτω σχήμα, για την ενίσχυση του τμήματος A με PCR, τα κατάλληλα τεχνητά ολιγονουκλεοτίδια είναι το ζευγάρι 1-3.



nikimargariti.com

5. Εάν ένα ευκαρυωτικό γονίδιο έχει 4 εσώνια, από το γονίδιο αυτό προκύπτουν έως 8 διαφορετικά ώριμα mRNA.

ΖΗΤΗΜΑ 2^ο

ΜΟΝΑΔΕΣ 25

Μονάδες 5

1. Σε μία άσκηση ενός πανεπιστημιακού εργαστηρίου Μοριακής Βιολογίας, μία ομάδα φοιτητών προσπαθεί να δημιουργήσει τη γονιδιωματική βιβλιοθήκη του βακτηρίου *Lactobacillus sp.*

Οι φοιτητές διαθέτουν ένα φορέα κλωνοποίησης πλασμίδιο, που φέρει γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά Στρεπτομυκίνη (Str^R) και Αμπικιλίνη (Amp^R). Το τελευταίο φέρει και τη μοναδική θέση ανασυνδυασμού. Τα βακτήρια-ξενιστές είναι ένα κατάλληλο στέλεχος *E.coli*.

Στην εργασία τους οι φοιτητές έγραψαν:

«Μετά τον ανασυνδυασμό των φορέων κλωνοποίησης από τα θραύσματα του DNA του *Lactobacillus sp.*, επακολούθησε ο μετασχηματισμός των βακτηρίων-ξενιστών. Μετά τον ανασχηματισμό, υπήρχαν 3 κατηγορίες βακτηρίων *E.coli*.

α) Τα μη μετασχηματισμένα που δεν φέρουν ανθεκτικότητα ούτε σε Str , ούτε σε Amp .

β) Τα μετασχηματισμένα

- i. Με το μη ανασυνδυασμένο φορέα κλωνοποίησης που έχουν ανθεκτικότητα και στα δύο αντιβιοτικά.
- ii. Με τον ανασυνδυασμένο φορέα κλωνοποίησης που φέρουν ανθεκτικότητα μόνο στο αντιβιοτικό Str .

Τα ζητούμενα βακτήρια *E.coli* είναι τα μετασχηματισμένα με το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.

Ο διαχωρισμός των βακτηρίων που αποτελούν τη βιβλιοθήκη από τα υπόλοιπα κύτταρα *E.coli* θα γίνει ως εξής:

Μετά τον μετασχηματισμό, στην υγρή βακτηριακή καλλιέργεια των ξενιστών προστέθηκε Str, οπότε τα μόνα βακτήρια που επέζησαν ήταν τα μετασχηματισμένα. Από αυτή την υγρή καλλιέργεια επιλέγουμε κάποια βακτήρια και τα καλλιεργούμε μεμονωμένα σε υγρό θρεπτικό υλικό. Στη συνέχεια χωρίζουμε τους απογόνους σε δύο ίσα μέρη και σε κάποια βακτήρια από τα δύο αυτά μέρη, χορηγούμε αμπικιλίνη. Αν πεθάνουν κάποια, συμπεραίνουμε ότι προέρχονται από την ομάδα που μας ενδιαφέρει, δηλαδή τα μετασχηματισμένα με το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.»

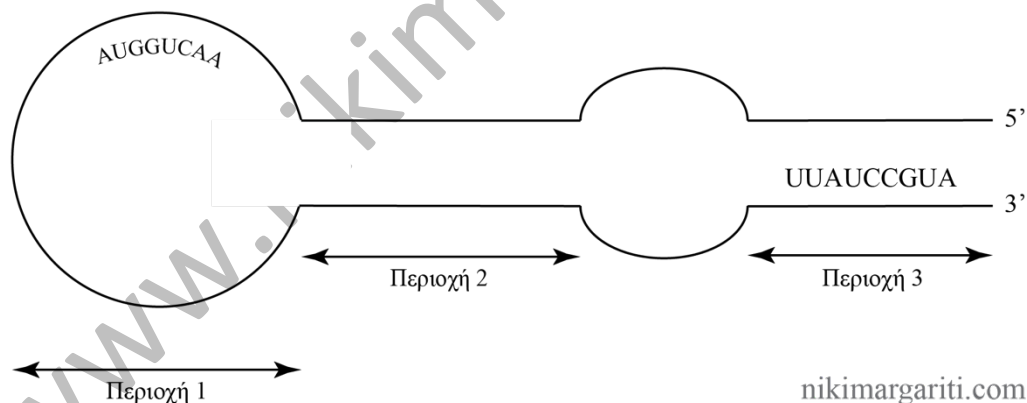
Εξηγήστε γιατί οι φοιτητές μηδενίστηκαν από τον υπεύθυνο του εργαστηρίου.

Μονάδες 5

2. Εργάζεστε σε μία φαρμακευτική βιομηχανία και ενδιαφέρεστε να δημιουργήσετε το εμβόλιο κατά ενός νέου ιού με γενετικό υλικό δίκλωνο DNA. Ξεκινάτε ψάχνοντας στο γονιδίωμα του ιού, ώστε να βρείτε τα/το γονίδιο που κωδικοποιεί για μία κατάλληλη πρωτεΐνη αντιγονικό καθοριστή του ιού.

Εξηγήστε με συντομία το είδος της βιβλιοθήκης του ιικού DNA που θα δημιουργήσετε, γονιδιωματική ή cDNA;

3. Δίνεται το παρακάτω τμήμα μορίου RNA, προϊόν της μεταγραφής ενός βακτηρίου. Το τμήμα αυτό είναι λειτουργικό.



α) Τι είδους γονίδιο το κωδικοποιεί αυτό το μόριο RNA; (3)

β) Γράψτε το τμήμα του γονιδίου που το κωδικοποιεί και αφορά την περιοχή 3. Προσδιορίστε την κωδική αλυσίδα του γονιδίου και τον προσανατολισμό των κλώνων του. (4)

γ) Τι είδους δεσμοί σταθεροποιούν αυτή τη δομή του μορίου RNA εντός της περιοχής 2; Ποιο ένζυμο καταλύει τη δημιουργία αυτών των δεσμών; (2)

Μονάδες 25

Υ
Ο
Ν
Ι
Δ
Ι
Ο
①

5' TCTCGGCTACTACGTAAACGCGCGCATATATCGATATCTAGCTACTATCGGTCTCGGCTACTACGTAAAC }
3' AGAGCCGATGATGCATTTGCGCGCGTATATAGCTATAGATCGATCATAGCCAGAGCCGATGATGCATTTG }

2) Το φυσιολογικό γονίδιο ① αντιγράφεται. Από τη θέση 80 έως τη θέση 140 υπάρχει θέση έναρξης της αντιγραφής (τα νούμερα που γράφονται είναι ενδεικτικά στην παρατιθέμενη αλληλουχία).

Δίνονται τα παρακάτω πρωταρχικά τμήματα:

- i. 5' AGAGAGAGAA 3'
- ii. 5' CUCCCCCGCG 3'
- iii. 5' AUAUAAUCUA 3'
- iv. 5' CCAUACAUAAG 3'

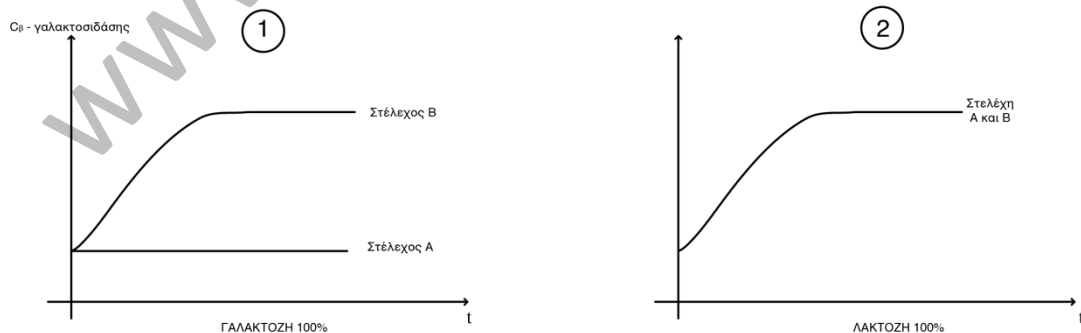
Τα πρωταρχικά αυτά τμήματα, είναι τα πρώτα πρωταρχικά τμήματα που τοποθετούνται από τα πριμοσώματα. Γνωρίζετε ότι, το πριμοσώμα τοποθετεί πρωταρχικό τμήμα 10 νουκλεοτιδίων κάθε 30 νουκλεοτίδια από το 5' άκρο του ακριβώς προηγούμενου πρωταρχικού τμήματος.

- i. Να βρεθούν τα δύο επόμενα πρωταρχικά τμήματα που θα τοποθετήσουν τα πριμοσώματα. (10)
- ii. Σε ποιο κλώνο, στον πάνω ή στον κάτω, κινείται η DNA πολυμεράση χρησιμοποιώντας τον ως καλούπι, που τοποθέτησε το 29^ο νουκλεοτίδιο στον κλώνο που συντίθεται ασυνεχώς και το νουκλεοτίδιο αυτό ήταν η T. (3)

ΖΗΤΗΜΑ 4^ο

Μονάδες 25

Σε δύο διαφορετικά βακτηριακά στελέχη *E.coli* μελετήθηκε η κινητική της παραγωγής της β-γαλακτοσιδάσης, παρουσία και απουσία λακτόζης. Όταν δεν υπήρχε λακτόζη, τα βακτήρια αναπτύσσονταν σε γαλακτόζη.



nikimargariti.com

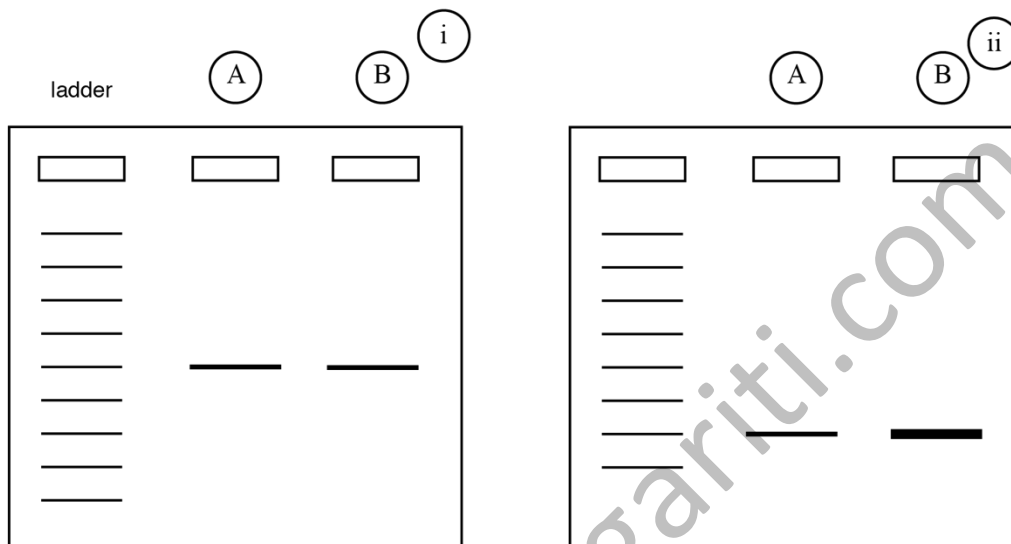
Για την ερμηνεία της καμπύλης ① δημιουργήθηκαν οι γονιδιωματικές βιβλιοθήκες των δύο στελεχών. Σε κάθε περίπτωση χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιες περιοριστικές ενδονουκλεάσες και για την δημιουργία των βιβλιοθηκών και για τα δύο στελέχη. Η

Διαγώνισμα στα κεφάλαια: 2 και 4

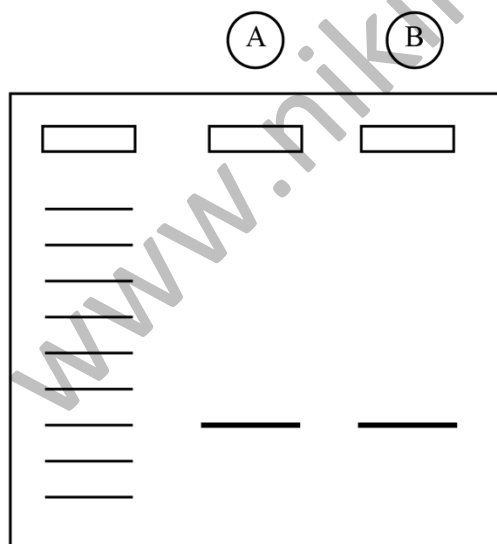
- i. PCR για την ενίσχυση του γονιδίου της β-γαλακτοσιδάσης.
- ii. PCR για την ενίσχυση του χειριστή.
- iii. PCR για την ενίσχυση του ρυθμιστικού γονιδίου.

Κατόπιν επακολούθησε πέψη των προϊόντων της PCR για τη σύγκριση των αλληλουχιών αυτών, των δύο στελεχών.

Τα αποτελέσματα του PCR είναι: Για την ενίσχυση των περιοχών DNA:



nikimargariti.com



nikimargariti.com

iii

Τέλος στην τελευταία σειρά πειραμάτων, έγινε υβριδοποίηση των γονιδιωματικών βιβλιοθηκών των δύο στελεχών, για τον εντοπισμό των αποικιών των παραπάνω περιοχών του οπερονίου.

Τα αποτελέσματα της υβριδοποίησης είναι:

	ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ	
	(A)	(B)
i. Για το γονίδιο της β-γαλακτοσιδάσης	1 ΑΠΟΙΚΙΑ	1 ΑΠΟΙΚΙΑ
ii. Για το χειριστή του οπερονίου	1 ΑΠΟΙΚΙΑ	13 ΑΠΟΙΚΙΕΣ
iii. Για το ρυθμιστικό γονίδιο του οπερονίου	1 ΑΠΟΙΚΙΑ	1 ΑΠΟΙΚΙΑ

Σύμφωνα με το σύνολο όλων των παραπάνω πειραμάτων, να απαντήσετε στα εξής:

- α)** Για ποιο λόγο οι επιστήμονες δημιούργησαν γονιδιωματικές και όχι cDNA βιβλιοθήκες των δύο στελεχών;
- β)** Για ποιο λόγο δημιούργησαν τις δύο διαφορετικές βιβλιοθήκες χρησιμοποιώντας τα ίδια ένζυμα;
- γ)** Για ποιο λόγο συνέκριναν τις αλληλουχίες των δύο οπερονίων των δύο στελεχών; Πώς γίνεται η σύγκριση με την πέψη;
- δ)** Για ποιο λόγο έγινε PCR των συγκεκριμένων περιοχών του γονιδιώματος που ανήκουν στο οπερόνιο των δύο στελεχών από ολόκληρο το γονιδίωμα;
- ε)** Για ποιο λόγο συνέκριναν ως προς την αλληλουχία τα προϊόντα του PCR, που έγινε για στοχευμένα τμήματα του οπερονίου, αφού είχαν συγκρίνει ήδη αυτές τις περιοχές εντός των βιβλιοθηκών;
- στ)** Για ποιο λόγο μετά το πρώτο PCR έγινε υβριδοποίηση των βιβλιοθηκών των δύο στελεχών για τον εντοπισμό των συγκεκριμένων αλληλουχιών;
- ζ)** Ερμηνεύστε για ποιο λόγο το στέλεχος εμφανίζει αυτή τη συμπεριφορά παρουσία γαλακτόζης.

Καλή Επιτυχία!