

**ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ
ΕΣΠΕΡΙΝΩΝ 2015****ΘΕΜΑ Α**

A₁ : β, **A₂** : γ, **A₃** : α, **A₄** : δ, **A₅** : β

ΘΕΜΑ Β

- B₁**: 1. Β
2. Α
3. Β
4. Α
5. Α
6. Α
7. Β
8. Β

B₂: Κατά την έναρξη της μετάφρασης το mRNA προσδένεται, μέσω μιας αλληλουχίας που υπάρχει στην 5' αμετάφραστη περιοχή του, με το ριβοσωμικό RNA της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος, σύμφωνα με τους κανόνες της συμπληρωματικότητας των βάσεων.

Το σύμπλοκο που δημιουργείται μετά την πρόσδεση του mRNA στη μικρή υπομονάδα του ριβοσώματος και του tRNA που μεταφέρει τη μεθειονίνη ονομάζεται σύμπλοκο έναρξης της πρωτεϊνοσύνθεσης.

B₃: Σήμερα μπορούμε να κατασκευάζουμε στο δοκιμαστικό σωλήνα ένα «ανασυνδυασμένο» μόριο DNA, δηλαδή ένα τεχνητό μόριο DNA, που περιέχει γονίδια από δύο ή και περισσότερους οργανισμούς. Το DNA αυτό μπορεί να μπει σε ένα βακτήριο ή σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο. Τα γενετικά τροποποιημένα βακτήρια ή ευκαρυωτικά κύτταρα είναι ικανά να ζουν και να αναπαράγονται μεταφέροντας στους απογόνους τους τις καινούργιες ιδιότητες.

B₄: Η ινσουλίνη είναι μια ορμόνη που αποτελείται από 51 αμινοξέα και παράγεται από ειδικά κύτταρα του παγκρέατος. Η ινσουλίνη χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των διαβητικών ατόμων. Πριν από το 1982 οι κύριες πηγές ινσουλίνης ήταν το πάγκρεας από χοίρους και από βοοειδή. Η ινσουλίνη παραγόταν από την εκχύλιση αυτών των ιστών με μια δαπανηρή και πολύπλοκη διαδικασία και επιπλέον, επειδή είχε μικρές διαφορές στη σύσταση των αμινοξέων της από την ανθρώπινη, προκαλούσε αλλεργικές αντιδράσεις.

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

Η ορμόνη αυτή ρυθμίζει το μεταβολισμό των υδατανθράκων και ειδικότερα το ποσοστό της γλυκόζης στο αίμα. Ο διαβήτης είναι μια ασθένεια που χαρακτηρίζεται από έλλειψη ή μείωση ινσουλίνης και υπολογίζεται ότι πάνω από 60.000.000 άτομα στον κόσμο πάσχουν από διαβήτη.

ΘΕΜΑ ΓΓ₁:

Η διαδικασία που εμφανίζεται είναι η **αντιγραφή DNA**.

Η Αζωτούχα βάση που τοποθετήθηκε κατά παράβαση του κανόνα της συμπληρωματικότητας είναι η **C** στο νεοσυντιθέμενο κλώνο DNA απέναντι από το πρώτο **C** του μητρικού κλώνου που συνάντησε η DNA πολυμεράση.

| | |
|--|--|
| 5' CUCUU TCT 3' 3' GAGAA C ATGCATACGAC 5' | 5' CUCUU TCTACGTATGCTG 3' 3' GAGAA C ATGCATACGAC 5' |
| 1. Δοθέν τμήμα | 2. Επιμήκυνση δοθέντος τμήματος |
| 5' CTCTTT CTACGTATGCTG 3' 3' GAGAA C ATGCATACGAC 5' | 5' CTCTTT GTACGTATGCTG 3' 3' GAGAA C ATGCATACGAC 5' |
| 3. Αντικατάσταση πρωταρχικού τμήματος | 4. Επιδιόρθωση κάκο – ζευγαρώματος/ τελικό δίκλωνο μόριο |

Γ₂:

Τα ένζυμα της αντιγραφής είναι :

- DNA ελικάσες:** Τα ένζυμα αυτά ξετυλίγουν το δίκλωνο μόριο του DNA δημιουργώντας την αντιγραφική θηλιά. Αναγνωρίζουν και συνδέονται στις θέσεις έναρξης της αντιγραφής.
- Πριμόσωμα:** Το πριμόσωμα είναι ένα σύμπλοκο ένζυμο το οποίο συνθέτει στη θέση έναρξης της αντιγραφής το πρωταρχικό τμήμα (RNA) για τη σύνθεση του συνεχούς κλώνου και συνθέτει επίσης τα πρωταρχικά τμήματα που απαιτούνται για την ασυνεχή σύνθεση του άλλου νεοσυντιθέμενου κλώνου κατά την αντιγραφή του DNA, παρέχοντας έτσι το 3'-OH άκρο που απαιτεί το ένζυμο DNA πολυμεράση για να πολυμερίσει αλυσίδες DNA.
- DNA πολυμεράσες:** Τα κύρια ένζυμα της αντιγραφής. Οι DNA πολυμεράσες συνθέτουν αλυσίδες DNA συνδέοντας διαδοχικά νουκλεοτίδια το καθένα στο 3' άκρο προϋπάρχουσας ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας με τη δημιουργία 3'→5' φωσφοδιεστερικού δεσμού.
Τα ένζυμα αυτά για να αρχίσουν τη σύνθεση του DNA απαιτούν ένα μικρό προϋπάρχον τμήμα (πρωταρχικό τμήμα). *In vivo* αυτό το τμήμα είναι στον νεοσυντιθέμενο κλώνο DNA ένα μικρό τμήμα RNA που δημιουργείται από το πριμόσωμα, ώστε να υπάρχει ελεύθερη ομάδα υδροξυλίου στο 3' άκρο του τελευταίου ριβονουκλεοτιδίου, από το οποίο θα ξεκινήσει την επιμήκυνση με δεοξυριβονουκλεοτίδια, η DNA πολυμεράση με μήτρα το μονόκλωνο μητρικό DNA και σύμφωνα με τον κανόνα της συμπληρωματικότητας και της αντιπαράλληλης, οπότε θα τοποθετήσει τα νέα δεοξυριβονουκλεοτίδια στη θυγατρική αλυσίδα που

δημιουργεί. *In vitro* (βλέπε Κεφ. 4, ένθετο PCR). Το ελεύθερο 3'-OH άκρο παρέχεται από ένα τεχνητό ολιγοδεοξυριβονουκλεοτιδικό άκρο. Ένα είδος DNA πολυμεράσης επιδιορθώνει τα λάθη της αντιγραφής, ενώ ένα άλλο απομακρύνει τα πρωταρχικά τμήματα RNA και τα αντικαθιστά με DNA.

- 4. DNA δεσμάση:** Το ένζυμο αυτό μπορεί να δημιουργεί 3'→5' φωσφοδιεστερικό δεσμό μεταξύ δεοξυνουκλεοτιδίων και χωρίς την απαίτηση να υπάρχει καλούπι. Έτσι, μετά την αντικατάσταση του τελευταίου ριβονουκλεοτιδίου ενός πρωταρχικού τμήματος από δεοξυνουκλεοτίδιο με τη δράση της DNA πολυμεράσης, η DNA δεσμάση δημιουργεί τον 3'→5' φωσφοδιεστερικό δεσμό μεταξύ αυτού του δεοξυνουκλεοτιδίου που πρόσθεσε η DNA πολυμεράση και του πρώτου δεοξυνουκλεοτιδίου που είχε επιμηκύνει αυτό το πρωταρχικό τμήμα, όταν ήταν ακόμη αποτελούμενο από ριβονουκλεοτίδια.
- 5. Επιδιορθωτικά ένζυμα:** Ένα σύνολο από επιδιορθωτικούς μηχανισμούς που διατηρούν την πιστότητα του DNA κατά τη διάρκεια της αντιγραφής, εκτός από τον επιδιορθωτικό ρόλο των ίδιων των DNA πολυμερασών. Οι περισσότερες καταστροφές στο γονιδίωμα επιδιορθώνονται από τα επιδιορθωτικά ένζυμα, τα οποία επιτηρούν και επιδιορθώνουν το DNA όχι μόνο κατά τη διάρκεια της αντιγραφής, αλλά και σε όλη τη διάρκεια της ζωής του βακτηριακού κυττάρου. Οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί αφορούν την απομάκρυνση της αζωτούχου βάσης και την αντικατάστασή της από τη σωστή.

Γ₃: Η καμπύλη α παρουσιάζει την ανάπτυξη του μικροοργανισμού.

Η καμπύλη β παρουσιάζει το παραγόμενο προϊόν.

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

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

Κατά τη λανθάνουσα φάση ο πληθυσμός των μικροοργανισμών που προέρχεται από την αρχική καλλιέργεια παραμένει σχεδόν σταθερός. Αυτό οφείλεται στο ότι οι μικροοργανισμοί χρειάζονται κάποιο χρονικό διάστημα για να προσαρμοστούν στις καινούργιες συνθήκες και να αρχίσουν να αναπτύσσονται. Στη συνέχεια, οι μικροοργανισμοί διαιρούνται με ταχύ ρυθμό, επειδή η καλλιέργεια πραγματοποιείται κάτω από άριστες συνθήκες θερμοκρασίας, pH, συγκέντρωσης O₂ και στο υλικό καλλιέργειας υπάρχουν άφθονα θρεπτικά συστατικά. Αυτή η φάση ανάπτυξης ονομάζεται εκθετική, επειδή ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται εκθετικά. Ακολουθεί η στατική φάση, κατά την οποία ο πληθυσμός των βακτηρίων δεν αυξάνεται, λόγω εξάντλησης κάποιου θρεπτικού

συστατικού ή λόγω συσσώρευσης τοξικών προϊόντων από το μεταβολισμό των μικροοργανισμών. Τέλος κατά τη φάση θανάτου ο αριθμός των μικροοργανισμών μειώνεται. Παρ' ότι η διαδοχή των φάσεων ανάπτυξης σε κάθε κλειστή καλλιέργεια είναι συγκεκριμένη, η διάρκεια κάθε φάσης διαφέρει ανάλογα με το είδος των μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί παράγουν χρήσιμα προϊόντα συνήθως κατά τη διάρκεια της εκθετικής και της στατικής φάσης ανάπτυξής τους.

Σύμφωνα λοιπόν με τα παραπάνω και με βάση το δεδομένο διάγραμμα, η **καμπύλη α** παρουσιάζει τις φάσεις κατά σειρά: λανθάνουσα → εκθετική → στατική → φάση θανάτου, από τις οποίες διέρχεται διαδοχικά μία μικροβιακή καλλιέργεια που αναπτύσσεται σε κλειστή ζύμωση.

Η **καμπύλη β** παρουσιάζει την παραγωγή του προϊόντος του μεταβολισμού του μικροβιακού είδους που ζυμώνεται. Το παραγόμενο προϊόν (πρωτογενής μεταβολίτης) ξεκινάει να παράγεται κατά την αρχή της εκθετικής φάσης της καλλιέργειας και σταματάει να παράγεται όταν η καλλιέργεια εισέρχεται σε στατική φάση, οπότε και αλλάζει ο μεταβολισμός των μικροοργανισμών ώστε να προσαρμοστούν στις δυσμενείς συνθήκες.

Γ₄: Λανθάνουσα φάση: $t_0 \rightarrow t_2$ (0 → 2 ώρες)
 Εκθετική φάση : $t_2 \rightarrow t_8$ (2 → 8 ώρες)
 Στατική φάση : $t_8 \rightarrow t_{12}$ (8 → 12 ώρες)
 Φάση θανάτου : $t_{12} \rightarrow$ (μετά την 12^η ώρα)

Γ₅: Τελική κατεργασία είναι η διεργασία καθαρισμού του προϊόντος που παραλαμβάνεται από το βιοαντιδραστήρα. Αρχικά, γίνεται διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά, στα οποία συμπεριλαμβάνονται και τα κύτταρα. Αυτό γίνεται συνήθως με διήθηση ή με φυγοκέντρηση. Το επιθυμητό προϊόν μπορεί να περιλαμβάνεται στα στερεά ή υγρά συστατικά, από όπου παραλαμβάνεται με τη χρήση κατάλληλων μεθόδων.

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

Με βάση τα παραπάνω και δεδομένου ότι το παραγόμενο προϊόν εκκρίνεται από τα μικροβιακά κύτταρα, θα πραγματοποιηθεί ο διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά της καλλιέργειας και από αυτά θα απομονώσουμε από τα υγρά συστατικά το παραγόμενο επιθυμητό προϊόν αφού αυτό θα βρίσκεται μαζί με τα υγρά συστατικά της καλλιέργειας.

Ως κωδικόνιο λήξης μπορεί να είναι ένα από τα τρία που υπάρχουν στον γενετικό κώδικα (${}^5\text{UAG}_3$, ${}^5\text{UAA}_3$, ${}^5\text{UGA}_3$). Εδώ επιλέχθηκε το ${}^5\text{UAG}_3$.

Τα μόρια του tRNA είναι συμπληρωματικά και αντιπαράλληλα με τα κωδικόνια του μορίου mRNA, του οποίου πραγματοποιείται η μετάφραση.

Κάθε μόριο tRNA έχει μια ειδική τριπλέτα νουκλεοτιδίων, το αντικωδικόνιο, με την οποία προσδένεται, λόγω συμπληρωματικότητας, με το αντίστοιχο κωδικόνιο του mRNA. Επιπλέον, κάθε μόριο tRNA διαθέτει μια ειδική θέση σύνδεσης με ένα συγκεκριμένο αμινοξύ.

Με τη μεταγραφή, οι πληροφορίες που βρίσκονται στα γονίδια μεταφέρονται στο mRNA με βάση τη συμπληρωματικότητα των νουκλεοτιδικών 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.

Από τα βασικά χαρακτηριστικά του γενετικού κώδικα είναι:

1. Ο γενετικός κώδικας είναι κώδικας τριπλέτας, δηλαδή μια τριάδα νουκλεοτιδίων, το κωδικόνιο, κωδικοποιεί ένα αμινοξύ.
2. Ο γενετικός κώδικας είναι συνεχής, δηλαδή το mRNA διαβάζεται συνεχώς ανά τρία νουκλεοτίδια χωρίς να παραλείπεται κάποιο νουκλεοτίδιο.
3. Ο γενετικός κώδικας είναι μη επικαλυπτόμενος, δηλαδή κάθε νουκλεοτίδιο ανήκει σε ένα μόνο κωδικόνιο.
4. Ο γενετικός κώδικας έχει κωδικόνιο έναρξης και κωδικόνια λήξης. Το κωδικόνιο έναρξης σε όλους τους οργανισμούς είναι το AUG και κωδικοποιεί το αμινοξύ μεθειονίνη. Υπάρχουν τρία κωδικόνια λήξης, τα UAG, UGA και UAA. Η παρουσία των κωδικονίων αυτών στο μόριο του mRNA οδηγεί στον τερματισμό της σύνθεσης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

Ο όρος κωδικόνιο δεν αφορά μόνο το mRNA αλλά και το γονίδιο από το οποίο παράγεται. Έτσι, για παράδειγμα, το κωδικόνιο έναρξης AUG αντιστοιχεί στο κωδικόνιο έναρξης της κωδικής αλυσίδας του γονιδίου ATG κ.ο.κ. Το τμήμα ενός γονιδίου, και του mRNA του που κωδικοποιεί μια πολυπεπτιδική αλυσίδα, αρχίζει με το κωδικόνιο έναρξης και τελειώνει με το κωδικόνιο λήξης.

Δ_3 : (κωδική αλυσίδα): |Y| ${}^5\text{... ATG – GAT – CTG – GAT – CTG – ACC – TAG ... }_3$
 (μη κωδική αλυσίδα): |Y| ${}_3\text{... TAC – CTA – GAC – CTA – GAC – TGG – ATC ... }^5$

όπου |Y|: υποκινητής του γονιδίου.