



## ΒΙΟΛΟΓΙΑ

### ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΥ ΟΜΑΔΑΣ ΥΓΕΙΑΣ & ΖΩΗΣ

#### ΘΕΜΑ Α

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

#### ΘΕΜΑ Β

B1. Α. Ι, Β. ΙV, Γ. VI, Δ. VII, Ε. ΙΙ, ΣΤ. ΙΙΙ, Ζ. V

B2. Αντιστοιχεί σε προκαρυωτικό οργανισμό. Στους προκαρυωτικούς οργανισμούς το mRNA αρχίζει να μεταφράζεται σε πρωτεΐνη πριν ακόμη ολοκληρωθεί η μεταγραφή του. Αυτό είναι δυνατό, επειδή δεν υπάρχει πυρηνική μεμβράνη και τα mRNAs μόρια των προκαρυωτικών οργανισμών είναι έτοιμα για μετάφραση καθώς δεν περιέχουν εσώνια.

B3. Τα μονοκλωνικά αντισώματα επειδή αναγνωρίζουν ειδικά έναν αντιγονικό καθοριστή, είναι πολύ χρήσιμα ως ανοσοδιαγνωστικά. Τα αντισώματα θα συνεισφέρουν σημαντικά στην αύξηση της ευαισθησίας κλινικών δοκιμασιών, όπως η τυποποίηση (προσδιορισμός) των ομάδων αίματος και η εξακρίβωση μίας πιθανής κύησης. Στην τελευταία περίπτωση

έχουν κατασκευαστεί ειδικά ανοσοδιαγνωστικά τεστ, τα οποία περιέχουν μονοκλωνικά αντισώματα για ειδικές ορμόνες που παράγονται κατά την κύηση. Η ορμόνη αυτή είναι η χοριακή γοναδοτροπίνη και χορηγείται με ένεση σε ποντίκι οπότε προκαλεί ανοσολογική αντίδραση σε αυτό, με αποτέλεσμα να αρχίσει η παραγωγή αντισωμάτων από εξειδικευμένα Β-λεμφοκύτταρα. Ύστερα από δύο εβδομάδες αφαιρείται ο σπλήνας και απομονώνονται τα Β-λεμφοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά συντήκονται με καρκινικά κύτταρα και παράγονται τα υβριδώματα. Τα υβριδώματα μπορούν να φυλάσσονται για μεγάλα χρονικά διαστήματα στην κατάψυξη ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) και να παράγουν οποιαδήποτε στιγμή το συγκεκριμένο μονοκλωνικό αντίσωμα σε μεγάλες ποσότητες.

**B4.** Το σύνολο των βακτηριακών κλώνων περιέχει το συνολικό DNA του οργανισμού δότη και αποτελεί μία γονιδιωματική βιβλιοθήκη.

Τα κύτταρα ενός πολύπλοκου πολυκύτταρου οργανισμού, όπως τα νευρικά, τα μυϊκά, τα ηπατικά, διαφέρουν στη μορφή και στη λειτουργία τους, αλλά έχουν όλα το ίδιο γενετικό υλικό, άρα και τα ίδια γονίδια.

Επομένως, αφού για τη δημιουργία της γονιδιωματικής βιβλιοθήκης από ηπατικό και από μυϊκό κύτταρο του ίδιου οργανισμού χρησιμοποιήθηκε η ίδια μέθοδος και τα ίδια ένζυμα, οι δύο αυτές γονιδιωματικές βιβλιοθήκες είναι ακριβώς οι ίδιες.

Μια cDNA βιβλιοθήκη είναι ένα σύνολο από βακτηριακούς κλώνους που περιέχει τα αντίγραφα των ώριμων mRNA όλων των γονιδίων που εκφράζονται στο συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο.

Μολονότι όλα τα κύτταρα έχουν τις ίδιες γενετικές οδηγίες, έχουν αναπτύξει μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να εκφράζουν τη γενετική τους πληροφορία επιλεκτικά και να ακολουθούν μόνο τις οδηγίες που χρειάζονται κάθε χρονική στιγμή.

Η RNA πολυμεράση λειτουργεί στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς (όπως και στους προκαρυωτικούς) με τη βοήθεια πρωτεϊνών, που ονομάζονται μεταγραφικοί παράγοντες. Μόνο που στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς οι μεταγραφικοί

παράγοντες παρουσιάζουν τεράστια ποικιλία. Κάθε κυτταρικός τύπος περιέχει διαφορετικά είδη μεταγραφικών παραγόντων. Επομένως, επειδή στο ηπατικό και στο μυϊκό κύτταρο μεταγράφονται διαφορετικά γονίδια, οι δύο cDNA βιβλιοθήκες των κυττάρων αυτών είναι διαφορετικές.

## ΘΕΜΑ Γ

**Γ1.** Μια πολλά υποσχόμενη ιδέα είναι η παραγωγή πρωτεϊνών από κύτταρα των μαστικών αδένων των ζώων, για παράδειγμα των προβάτων και των αγελάδων. Με αυτό τον τρόπο θα είναι δυνατή η συλλογή της πρωτεΐνης από το γάλα των ζώων. Αυτός ο τρόπος παραγωγής ονομάζεται παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα (gene pharming). Η πιο επιτυχημένη εφαρμογή αφορά την παραγωγή της αν-θρώπινης α1-αντιθρυψίνης (AAT = alpha antitrypsin) από πρόβατα. Η πρωτεΐνη αυτή παράγεται στο ήπαρ του ανθρώπου και η απουσία της, που είναι αποτέλεσμα μετάλλαξης του γονιδίου, έχει ως αποτέλεσμα γενετική ασθένεια, που οδηγεί στο εμφύσημα. Για την παραγωγή της πρωτεΐνης αυτής από τα πρόβατα απομονώθηκε το φυσιολογικό γονίδιο της AAT του ανθρώπου και στη συνέχεια με μικροέγχυση τοποθετήθηκε σε γονιμοποιημένο ωάριο προβάτου.

Μολονότι όλα τα κύτταρα ενός πολυκύτταρου οργανισμού έχουν τις ίδιες γενετικές οδηγίες, έχουν αναπτύξει μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να εκφράζουν τη γενετική τους πληροφορία επιλεκτικά και να ακολουθούν μόνο τις οδηγίες που χρειάζονται κάθε χρονική στιγμή. Κάθε κυτταρικός τύπος έχει εξειδικευμένη λειτουργία και πρέπει να υπάρχει πλήρης συντονισμός των λειτουργιών όλων των κυττάρων. Έτσι, το γονίδιο για την πρωτεΐνη καζεΐνη στο πρόβατο, ενώ υπάρχει στο DNA όλων των κυττάρων του, εκφράζεται επιλεκτικά σε συγκεκριμένο τύπο μαστικών κυττάρων, μιας και αποτελεί βασική πρωτεΐνη του γάλακτος. Συνεπώς εισάγοντας το γονίδιο της ανθρώπινης α1-αντιθρυψίνης με τον κατάλληλο προσανατολισμό εντός της αλληλουχίας του γονιδίου της καζεΐνης, το γονίδιο αυτό θα ακολουθεί τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης της καζεΐνης και θα εκφράζεται από το συγκεκριμένο τύπο μαστικών κυττάρων. Πιο συγκεκριμένα, για τη μεταγραφή του γονιδίου

της α1-αντιθρυψίνης θα χρησιμοποιηθεί ο υποκινητής του γονιδίου της καζεΐνης, ο οποίος αναγνωρίζεται από το συνδυασμό των μεταγραφικών παραγόντων που υπάρχει στο συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο των μαστικών αδένων του προβάτου.

## Γ2.

### 1<sup>ος</sup> τρόπος απάντησης

5' AATTCGCAAATTA 3'

3' GGCGTTTAATT 5'

Μία από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες που χρησιμοποιείται ευρέως είναι η EcoRI που απομονώθηκε από το βακτήριο *Escherichia coli*. Το ένζυμο αυτό όποτε συναντά την αλληλουχία:

5'-GAATTC-3'

3'-CTTAAG-5'

στο γονιδίωμα, κόβει κάθε αλυσίδα μεταξύ του G και του A (με κατεύθυνση 5'→3') αφήνοντας μονόκλινα άκρα από αζευγάρωτες βάσεις στα κομμένα άκρα. Όπως παρατηρούμε η εν λόγω αλληλουχία με τον προσανατολισμό που επιτρέπει το κόψιμο από την περιοριστική ενδονουκλεάση συναντάται με τον προσανατολισμό που έχει σημειωθεί παραπάνω.

Τα πλασμίδια που περιέχουν την αλληλουχία αυτή με το συγκεκριμένο προσανατολισμό μία φορά μπορούν να κοπούν από την EcoRI σε αυτή τη θέση και να δημιουργηθεί ένα γραμμικό μόριο DNA με μονόκλινα άκρα, όπως φαίνεται παρακάτω.

5' G 3'                      5' AATTC 3'

3' CTTAA 5'                      G 5'

Όπως βλέπουμε και παραπάνω στο πλασμίδιο προκύπτουν 2 μονόκλινα άκρα ενώ το τμήμα DNA έχει μόνο ένα μονόκλινο άκρο. Συνεπώς, επιχειρώντας την κλωνοποίηση με την χρήση DNA δεσμάσης για τη δημιουργία ανασυνδυασμένου DNA, δεν είναι δυνατό να προκύψει δίκλινο ανασυνδυασμένο

πλασμίδιο, αφού περισσεύει το μονόκλωνο άκρο του πλασμιδίου.

2<sup>ος</sup> τρόπος απάντησης

Η κλωνοποίηση θα ήταν δυνατή εάν στο τμήμα DNA προστεθεί μονόκλωνο άκρο DNA, με τη χρήση κατάλληλου ενζύμου, οπότε το τμήμα DNA θα γίνει:

5' AATTCGCAAATTA 3'

3' GGCGTTTAATTTAA 5'

**Γ3.** Τα άτομα με ομάδα αίματος A έχουν στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων τους αντιγόνο τύπου A. Άτομα ομάδας αίματος B έχουν αντιγόνο B. Ένα άτομο ομάδας αίματος AB έχει αντιγόνα A και B, ενώ ένα άτομο ομάδας αίματος 0 δεν έχει κανένα αντιγόνο. Το γονίδιο I, που καθορίζει τις ομάδες αίματος, έχει τρία αλληλόμορφα. Τα I<sup>A</sup> και I<sup>B</sup> κωδικοποιούν τα

ένζυμα που σχηματίζουν τα A και B αντιγόνα αντίστοιχα, ενώ το i δεν κωδικοποιεί κάποιο ένζυμο.

$I^A$ : A αντιγόνο στην επιφάνεια ερυθροκυττάρων

$I^B$ : B αντιγόνο στην επιφάνεια ερυθροκυττάρων

i: κανένα αντιγόνο

$I^A I^B$ : συνεπικρατή

$I^A, I^B > i$

ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ	ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΙ
$I^A I^A$	A ομάδα αίματος
$I^A i$	A ομάδα αίματος
$I^A I^B$	AB ομάδα αίματος
$I^B I^B$	B ομάδα αίματος
$I^B i$	B ομάδα αίματος
ii	0 ομάδα αίματος

Από τα παραπάνω και τον πίνακα των δεδομένων προκύπτει:

$\Gamma_1$ : 0 ομάδα, γονότυπος ii

$\Sigma_1$ : AB ομάδα, γονότυπος  $I^A I^B$

$\Sigma_2$ : A ομάδα, γονότυπος  $I^A i$

$\Pi_1$ : 0 ομάδα, γονότυπος ii

$\Pi_2$ : B ομάδα, γονότυπος  $I^B i$

Συνεπώς:

Για το  $\Pi_1$ : 0 ομάδα, γονότυπος ii: Πατέρας είναι ο  $\Sigma_2$  γιατί έδωσε i (και η  $\Gamma_1$  i). Δεν μπορεί να είναι ο  $\Sigma_1$  γιατί δεν διαθέτει i.

Για το  $\Pi_2$ : B ομάδα, γονότυπος  $I^B i$ : Πατέρας είναι ο  $\Sigma_1$  γιατί έδωσε στο παιδί του  $I^B$  ενώ η μητέρα του έδωσε απαραίτητα i. Ο  $\Sigma_2$  δεν διαθέτει  $I^B$  για να κληροδοτήσει σε αυτό το παιδί.

**Γ4.** Όταν στο θρεπτικό υλικό υπάρχει μόνο 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 δομικών 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.

Κατά συνέπεια, η αύξηση της ποσότητας του mRNA μετά την προσθήκη της λακτόζης οφείλεται στην ενεργοποίηση των δομικών γονιδίων του οπερονίου της λακτόζης.

## ΘΕΜΑ Δ

**Δ1.** Η αλληλουχία III αντιστοιχεί στο φυσιολογικό γονίδιο της β-αλυσίδας της HbA, ενώ η αλληλουχία I στο γονίδιο β<sup>S</sup> της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας

Η διαφορά ανάμεσα στο φυσιολογικό γονίδιο της β-αλυσίδας της HbA και στο γονίδιο β<sup>S</sup> της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας εντοπίζεται στο έκτο αμινοξύ της β-πολυπεπτιδικής αλυσίδας, όπου το γλουταμινικό οξύ αντικαθίσταται από βαλίνη. Η μεταλλαγμένη αιμοσφαιρίνη συμβολίζεται ως HbS. Η αλλαγή στην ακολουθία των αμινοξέων είναι αποτέλεσμα μιας γονιδιακής μετάλλαξης στην τριπλέτα που κωδικοποιεί το γλουταμινικό οξύ. Στην κωδική αλυσίδα του DNA δηλαδή, αλλάζει μία βάση και το φυσιολογικό κωδικόνιο GAG, που κωδικοποιεί το γλουταμινικό οξύ, αντικαθίσταται από το GTG, που κωδικοποιεί τη βαλίνη.

Η αλυσίδα A της αλληλουχίας III είναι η κωδική, επειδή περιέχει την τριπλέτα ATG που αποτελεί το κωδικόνιο έναρξης της μετάφρασης. Το 7<sup>ο</sup> κωδικόνιο της αλυσίδας αυτής είναι το GAG. Από τη σύγκριση των αλληλουχιών I και III προκύπτει ότι η μόνη διαφορά που έχουν είναι η αντικατάσταση μιας βάσης στο κωδικόνιο αυτό, με αποτέλεσμα στην αλληλουχία I, το 7<sup>ο</sup> κωδικόνιο να είναι το GTG. Επειδή το πρώτο αμινοξύ της β-αλυσίδας απομακρύνεται με μεταμεταφραστική τροποποίηση, το 6<sup>ο</sup> αμινοξύ της πολυπεπτιδικής αλυσίδας που προκύπτει από την αλληλουχία III είναι το γλουταμινικό οξύ, ενώ το 6<sup>ο</sup>

αμινοξύ της πολυπεπτιδικής αλυσίδας που προκύπτει από την αλληλουχία I είναι η βαλίνη.

**Δ2.** Μια από τις σοβαρότερες αιμοσφαιρινοπάθειες είναι η θαλασσαιμία, που οφείλεται σε ελαττωμένη σύνθεση είτε των  $\alpha$  είτε των  $\beta$  αλυσίδων και οδηγεί αντίστοιχα σε  $\alpha$ - ή  $\beta$ -θαλασσαιμία.

Από τη σύγκριση των αλληλουχιών III και II προκύπτει ότι η μόνη διαφορά που έχουν είναι η προσθήκη μιας κυτοσίνης στο κωδικόνιο έναρξης της κωδικής αλυσίδας. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα η κωδική αλυσίδα της αλληλουχίας II να μην έχει κωδικόνιο έναρξης, με αποτέλεσμα να μην κωδικοποιεί πολυπεπτιδική αλυσίδα. Επομένως, η αλληλουχία αυτή θα μπορούσε να αντιστοιχεί σε γονίδιο που προκαλεί τη  $\beta$ -θαλασσαιμία.

**Δ3.** α. Η θέση έναρξης της αντιγραφής βρίσκεται στη θέση Υ.  
β. Η αλυσίδα A αντιγράφεται συνεχώς, ενώ η αλυσίδα B αντιγράφεται ασυνεχώς.  
γ. Το πρωταρχικό τμήμα iii της ασυνεχούς αλυσίδας συντίθεται πρώτο.

**Δ4.** Η  $\beta$ -θαλασσαιμία και η δρεπανοκυτταρική αναιμία ελέγχονται από την ίδια γενετική θέση. Έστω:  
B: το αλληλόμορφο που κωδικοποιεί τη φυσιολογική  $\beta$ -πολυπεπτιδική αλυσίδα,  
 $\beta$ : το αλληλόμορφο που είναι υπεύθυνο για τη  $\beta$ -θαλασσαιμία,  
 $\beta^S$ : το αλληλόμορφο που είναι υπεύθυνο για τη δρεπανοκυτταρική αναιμία

P γενιά: B $\beta$  (x) B $\beta^S$

γαμέτες: B,  $\beta$  B,  $\beta^S$

F<sub>1</sub> γενιά: BB, B $\beta^S$ , B $\beta$ ,  $\beta\beta^S$

Ο τρόπος με τον οποίο κληρονομούνται οι χαρακτήρες τους οποίους μελέτησε ο Mendel είναι αποτέλεσμα των γεγονότων που συμβαίνουν στη μείωση. Κατά την παραγωγή των γαμετών διαχωρίζονται τα δύο ομόλογα χρωμοσώματα και συνεπώς και τα δύο αλληλόμορφα γονίδια. Σε ένα άτομο γονότυπου B $\beta$ , για παράδειγμα, σχηματίζονται δύο ειδών γαμέτες, B και  $\beta$ , σε ίση αναλογία. Οι απόγονοι προκύπτουν από τον τυχαίο συνδυασμό των γαμετών. Η κατανομή των αλληλόμορφων στους γαμέτες



και ο τυχαίος συνδυασμός τους αποτελεί τον πρώτο νόμο του Mendel ή νόμο του διαχωρισμού των αλληλόμορφων γονιδίων.

ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΑ ΒΑΚΑΛΗ