

ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ

ΘΕΜΑ Α

A1: γ

A2: β

A3: α

A4: δ

A5: α

ΘΕΜΑ Β

B1. Η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το Σεπτέμβριο του 1990 σε ένα τετράχρονο κορίτσι που έπασχε από ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος. Η ασθένεια αυτή οφείλεται στην έλλειψη του ενζύμου απαμινάση της αδενοσίνης (ADA), που παίρνει μέρος στον μεταβολισμό των πουρινών στα κύτταρα του μυελού των οστών. Η έλλειψη οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου που παράγει το ένζυμο αυτό. Η ασθένεια εμφανίζει αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας.

Η διαδικασία που ακολουθείται στη γονιδιακή θεραπεία της παραπάνω ασθένειας είναι η εξής:

- Λεμφοκύτταρα του παιδιού παραλαμβάνονται και πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργειες.
- Το φυσιολογικό γονίδιο της απαμινάσης της αδενοσίνης ενσωματώνεται σε έναν ιό-φορέα (ο οποίος έχει καταστεί αβλαβής) με τις τεχνικές του ανασυνδυασμένου DNA.
- Ο γενετικά τροποποιημένος ιός εισάγεται στα λεμφοκύτταρα.
- Τα γενετικά τροποποιημένα λεμφοκύτταρα εισάγονται με ενδοφλέβια ένεση στο παιδί και παράγουν το ένζυμο ADA

Βέβαια τα τροποποιημένα λεμφοκύτταρα δε ζουν για πάντα μέσα στον οργανισμό - δηλαδή η θεραπεία δεν είναι μόνιμη- και χρειάζεται συνεχής έγχυση τέτοιων κυττάρων.

Όμως, όπως στην περίπτωση των διαβητικών, τα άτομα μπορούν να ζουν φυσιολογικά, κάνοντας σε κανονικά χρονικά διαστήματα αυτή τη θεραπεία.

Ο τύπος αυτός της γονιδιακής θεραπείας ονομάζεται ex vivo, γιατί τα κύτταρα τροποποιούνται έξω από τον οργανισμό και εισάγονται πάλι σ' αυτόν.

B2. Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την είσοδο του «ξένου» DNA στα κύτταρα ενός ζώου. Η σημαντικότερη από αυτές είναι η μικροέγχυση. Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται ωάρια του ζώου που έχουν γονιμοποιηθεί στο εργαστήριο. Σε αυτά γίνεται εισαγωγή του ξένου DNA με ειδική μικροβελόνα. Το ξένο γενετικό υλικό ενσωματώνεται συνήθως σε κάποιο από τα χρωμοσώματα του πυρήνα του ζυγωτού. Το ζυγωτό τοποθετείται στη συνέχεια στη μήτρα της «θετής» μητέρας, ενός ζώου στο οποίο θα αναπτυχθεί το έμβρυο. Η μικροέγχυση αποτελεί τη μοναδική μέθοδο δημιουργίας διαγονιδιακών αγελάδων, προβάτων, χοίρων και αιγών.

- B3.** Τα μιτοχόνδρια και οι χλωροπλάστες έχουν DNA. Το γενετικό υλικό των μιτοχονδρίων περιέχει πληροφορίες σχετικές με τη λειτουργία τους, δηλαδή σχετικά με την οξειδωτική φωσφορυλίωση, και κωδικοποιεί μικρό αριθμό πρωτεϊνών. Οι περισσότερες όμως πρωτεΐνες, που είναι απαραίτητες για τη λειτουργία των μιτοχονδρίων, κωδικοποιούνται από γονίδια που βρίσκονται στο DNA του πυρήνα. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι τα οργανίδια αυτά δεν είναι ανεξάρτητα από τον πυρήνα του κυττάρου και για το λόγο αυτό χαρακτηρίζονται ως ημιαυτόνομα.
- B4.** 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.

ΘΕΜΑ Γ

Γ1. Ιδιότητα μέγεθος φτερών

Έστω:

K: επικρατές αλληλόμορφο γονίδιο, υπεύθυνο για το κανονικό μέγεθος φτερών

k: υπολειπόμενο αλληλόμορφο γονίδιο, υπεύθυνο για το ατροφικό μέγεθος φτερών

Φαινοτυπική αναλογία θηλκών απογόνων: 3 με φυσιολογικά φτερά : 1 με ατροφικά φτερά

Φαινοτυπική αναλογία αρσενικών απογόνων: 3 με φυσιολογικά φτερά : 1 με ατροφικά φτερά

Εφόσον προκύπτουν απόγονοι με ατροφικά φτερά και γονότυπο **kk** διαπιστώνουμε ότι κληρονόμησαν από ένα **k** υπολειπόμενο αλληλόμορφο γονίδιο από τους γονείς τους. Επίσης από τη φαινοτυπική αναλογία των απογόνων (3:1), διαπιστώνουμε ότι και τα δύο άτομα της πατρικής γενιάς θα είναι ετερόζυγα. Δηλαδή θα έχουν γονότυπο **Kk** και φαινότυπο κανονικές φτερά.

Διασταύρωση: **P: Kk x Kk**

Γ: K, k K, k

	K	k
K	KK	Kk
k	Kk	kk

Φαινοτυπική αναλογία: 3 με φυσιολογικά φτερά : 1 με ατροφικά φτερά **ΙΣΧΥΕΙ**

Οι γαμέτες προκύπτουν σύμφωνα με τον **1^ο** και τον **2^ο νόμο του Mendel**. Με βάση τον **1^ο νόμο του Mendel** – ο οποίος αποτελεί την κατανομή των αλληλομόρφων στους γαμέτες και τον τυχαίο συνδυασμό τους – κατά τη μείωση όπου σχηματίζονται οι γαμέτες, διαχωρίζονται τα δύο ζευγάρια ομόλογων χρωμοσωμάτων και συνεπώς και τα αλληλόμορφα γονίδια. Οι απόγονοι προκύπτουν από τον τυχαίο συνδυασμό των γαμετών.

Ο **2^{ος}** νόμος του Mendel ισχύει εφόσον τα δύο διαφορετικά γονίδια εδράζονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα.

Γ2. Ιδιότητα χρώμα ματιών

Φαινοτυπική αναλογία θηλυκών απογόνων: 1 με κόκκινα μάτια : 1 με άσπρα μάτια

Φαινοτυπική αναλογία αρσενικών απογόνων: 1 με κόκκινα μάτια : 1 με άσπρα μάτια

Με βάση τη φαινοτυπική αναλογία των απογόνων διαπιστώνουμε ότι το γονίδιο που καθορίζει το χρώμα των ματιών στο έντομο μπορεί να κληρονομείται τόσο με αυτοσωμικό όσο και με φυλοσύνδετο τρόπο.

1^η περίπτωση: Έστω ότι κληρονομείται με αυτοσωμικό τρόπο. Τότε:

A: επικρατές αλληλόμορφο γονίδιο, υπεύθυνο για το κόκκινο χρώμα ματιών

a: υπολειπόμενο αλληλόμορφο γονίδιο, υπεύθυνο για το άσπρο χρώμα ματιών

Εφόσον προκύπτουν απόγονοι με άσπρο χρώμα ματιών διαπιστώνουμε ότι κληρονόμησαν από ένα a υπολειπόμενο αλληλόμορφο γονίδιο από τους δύο γονείς τους.

Για τους πιθανούς γονότυπους των γονέων θα πρέπει να εξετάσουμε δύο υποπεριπτώσεις:

i) Θηλυκό άτομο γονότυπος: Aa

αρσενικό άτομο γονότυπος: aa

Διασταύρωση: P: ♀ Aa x ♂ aa

Γ: A, a a

	A	a
a	Aa	aa

Φαινοτυπική αναλογία: 1 με κόκκινα μάτια : 1 με άσπρα μάτια **ΙΣΧΥΕΙ**

ii) Θηλυκό άτομο γονότυπος: aa

αρσενικό άτομο γονότυπος: Aa

Διασταύρωση: P: ♀ aa x ♂ Aa

Γ: a A, a

	a
A	Aa
a	aa

Φαινοτυπική αναλογία: 1 με κόκκινα μάτια : 1 με άσπρα μάτια **ΙΣΧΥΕΙ**

2^η περίπτωση: Έστω ότι κληρονομείται με φυλοσύνδετο τρόπο. Τότε:

X^A: επικρατές αλληλόμορφο γονίδιο, υπεύθυνο για το κόκκινο χρώμα ματιών

X^a: υπολειπόμενο αλληλόμορφο γονίδιο, υπεύθυνο για το άσπρο χρώμα ματιών

Αφού στο έντομο το φύλο καθορίζεται όπως και στον άνθρωπο, συνεπώς η παρουσία του Y φυλετικού χρωμοσώματος καθορίζει το αρσενικό άτομο και η απουσία του το θηλυκό. Επομένως τα αρσενικά άτομα θα έχουν XY φυλετικά χρωμοσώματα και τα θηλυκά XX.

Όπως γνωρίζουμε τα αρσενικά άτομα κληρονομούν το X φυλετικό χρωμόσωμα από τη μητέρα τους και το Y από τον πατέρα τους. Έτσι, αφού προκύπτουν αρσενικοί απόγονοι τόσο με κόκκινα μάτια και γονότυπο **X^AY** όσο και με λευκά μάτια και γονότυπο **X^aY**, διαπιστώνουμε ότι η μητέρα τους, το θηλυκό άτομο της πατρικής

γενιάς θα έχει γονότυπο $X^A X^a$ και φαινότυπο κόκκινα μάτια. Επίσης, γνωρίζουμε ότι οι θηλυκοί απόγονοι κληρονομούν από ένα X φυλετικό χρωμόσωμα από τη μητέρα και τον πατέρα τους. Αφού προκύπτουν θηλυκοί απόγονοι με λευκά μάτια και γονότυπο $X^a X^a$, διαπιστώνουμε ότι κληρονόμησαν από ένα X^a υπολειπόμενο αλληλόμορφο από τους δύο γονείς τους. Άρα το αρσενικό άτομο της πατρικής γενιάς θα έχει γονότυπο $X^a Y$ και φαινότυπο άσπρα μάτια.

Διασταύρωση: $P: X^A X^a \times X^a Y$
 $G: X^A, X^a \quad X^a, Y$

	X^A	X^a
X^A	$X^A X^A$	$X^A X^a$
Y	$X^A Y$	$X^a Y$

Φαινοτυπική αναλογία: 1 με κόκκινα μάτια : 1 με άσπρα μάτια **ΙΣΧΥΕΙ**

Οι γαμέτες προκύπτουν σύμφωνα με τον 1^ο και τον 2^ο νόμο του Mendel. Με βάση τον 1^ο νόμο του Mendel – ο οποίος αποτελεί την κατανομή των αλληλομόρφων στους γαμέτες και τον τυχαίο συνδυασμό τους – κατά τη μείωση όπου σχηματίζονται οι γαμέτες, διαχωρίζονται τα δύο ζευγάρια ομόλογων χρωμοσωμάτων και συνεπώς και τα αλληλόμορφα γονίδια. Οι απόγονοι προκύπτουν από τον τυχαίο συνδυασμό των γαμετών.

Ο 2^{ος} νόμος του Mendel ισχύει εφόσον τα δύο διαφορετικά γονίδια εδράζονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα.

Γ3. Οι αναλογίες των νόμων του Mendel δεν ισχύουν στις παρακάτω περιπτώσεις:

- Ατελώς επικρατή γονίδια
- Συνεπικρατή γονίδια
- Θνησιγόνα γονίδια
- Πολλαπλά αλληλόμορφα
- Φύλοσύνδετα γονίδια

ΘΕΜΑ Δ

Δ1. Με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας (η A συνδέεται μόνο με τη T και αντίστροφα και η G μόνο με την C και αντίστροφα), προκύπτουν δύο υβριδοποιημένα μόρια. Η αλυσίδα 1 υβριδοποιείται με την αλυσίδα 3 και προκύπτει το υβριδοποιημένο μόριο 1 και η αλυσίδα 2 υβριδοποιείται με την αλυσίδα 4 και προκύπτει το υβριδοποιημένο μόριο 2. Έτσι:

Υβριδοποιημένο μόριο 1:

5'-	A	A	A	T	G	A	A	A	C	C	A	G	G	A	T	A	A	G				-3'	
3'-	T	T	T	A	C	T	T	T	G	G	T	C	C	T	A	T	T	C	T	T	A	A	-5'

Υβριδοποιημένο μόριο 2:

5'-	A	A	T	T	C	G	G	G	G	G	G	C										-3'
3'-					G	C	C	C	C	C	C	G	T	T	A	A						-5'

- Δ2.** Γνωρίζουμε ότι τόσο η κωδική αλυσίδα του DNA όσο και το mRNA, είναι συμπληρωματικά προς τη μεταγραφόμενη αλυσίδα του DNA. Έτσι, η μόνη τους διαφορά είναι ότι όπου στην κωδική αλυσίδα υπάρχει T στο mRNA υπάρχει U. Εφόσον το κωδικόνιο έναρξης του mRNA είναι το AUG με κατεύθυνση 5' AUG 3', το αντίστοιχο κωδικόνιο στην κωδική αλυσίδα του DNA θα είναι το ATG και θα έχει κατεύθυνση 5' ATG 3'. Επίσης, εφόσον τα κωδικόνια λήξης του mRNA είναι τα 5' UAG 3' ή 5' UGA 3' ή 5' UAA 3', τα αντίστοιχα κωδικόνια στην κωδική αλυσίδα του DNA θα είναι τα 5' TAG 3' ή 5' TGA 3' ή 5' TAA 3'. Τέλος, οι βάσεις ανάμεσα στο κωδικόνιο έναρξης και το κωδικόνιο λήξης θα πρέπει να διαβάζονται ανά τριάδες (κώδικας τριπλέτας), συνεχόμενα χωρίς να παραλείπεται κάποιο νουκλεοτίδιο (συνεχής), καθώς κάθε νουκλεοτίδιο ανήκει σε μία μόνο τριπλέτα (μη επικαλυπτόμενος).

Συνεπώς το υβριδοποιημένο μόριο στο οποίο περιέχεται γονίδιο είναι το υβριδοποιημένο μόριο 1 και η κωδική του αλυσίδα είναι η πάνω αλυσίδα, με κατεύθυνση από αριστερά προς τα δεξιά.

Η RNA πολυμεράση προσδένεται στον υποκινητή με τη βοήθεια μεταγραφικών παραγόντων και προσθέτει συμπληρωματικά ριβονουκλεοτίδια έναντι των δεοξυριβονουκλεοτιδίων της μη κωδικής αλυσίδας ενώνοντάς τα με 3' - 5' φωσφοδιεστερικό δεσμό. Απέναντι από A προσθέτει U, απέναντι από T προσθέτει A και απέναντι από G προσθέτει C και αντίστροφα.

Το mRNA συντίθεται με κατεύθυνση 5' → 3' με μεταγραφή της μη κωδικής αλυσίδας με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας και της αντιπαράλληλης. Επομένως, το mRNA που προκύπτει από τη μεταγραφή της μη κωδικής αλυσίδας φέρει την ακόλουθη αλληλουχία (μεταγράφεται ολόκληρη η κάτω αλυσίδα του υβριδοποιημένου μορίου 1):

5' AAAUGAAACCAGGAUAAGAAUU 3'

- Δ3.** Κατά την επιμήκυνση του πεπτιδίου που σχηματίζεται κατά τη μετάφραση, ένα δεύτερο μόριο tRNA με αντικωδικόνιο συμπληρωματικό του δεύτερου κωδικονίου του mRNA τοποθετείται στην κατάλληλη εισδοχή 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.

Στη συνέχεια το ριβόσωμα κινείται κατά μήκος του mRNA κατά ένα κωδικόνιο. Ένα τρίτο tRNA έρχεται να προσδεθεί μεταφέροντας το αμινοξύ του. Ανάμεσα στο δεύτερο και στο τρίτο αμινοξύ σχηματίζεται πεπτιδικός δεσμός. Η πολυπεπτιδική αλυσίδα συνεχίζει να αναπτύσσεται καθώς νέα tRNA μεταφέρουν αμινοξέα τα οποία συνδέονται μεταξύ τους.

Συνεπώς, μετά την αποσύνδεση του t-RNA που κωδικοποιεί τη λυσίνη, στο m-RNA θα προσδεθεί το t-RNA με αντικωδικόνιο 3' - CCU -5' που μεταφέρει το αμινοξύ Γλυκίνη.

- Δ4.** Το ανασυνδυασμένο μόριο DNA, είναι ένα τεχνητό μόριο DNA, που περιέχει γονίδια από δύο ή και περισσότερους οργανισμούς. Τα δύο υβριδοποιημένα μόρια DNA 1 και 2, αναμιγνύονται και ενώνονται μεταξύ τους επειδή έχουν μονόκλωνα συμπληρωματικά άκρα με τη μεσολάβηση του ενζύμου DNA δεσμάση, η οποία καταλύει το σχηματισμό 3' - 5' φωσφοδιεστερικών δεσμών.

Με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας η Α συνδέεται μόνο με τη Τ και αντίστροφα και η G μόνο με την C και αντίστροφα. Επίσης στην ένωση των δύο διαφορετικών υβριδοποιημένων μορίων DNA εφαρμόζεται και ο κανόνας της αντιπαλληλίας, σύμφωνα με τον οποίο απέναντι από το 5' άκρο μίας αλυσίδας θα βρίσκεται το 3' άκρο της άλλης και αντίστροφα.

Έτσι τα πιθανά ανασυνδυασμένα μόρια DNA θα είναι 2, με βάση την κατεύθυνση των αλυσίδων τους. Δηλαδή στο υβριδοποιημένο μόριο 1 το τελευταίο νουκλεοτίδιο στο 3' άκρο στην πάνω αλυσίδα που φέρει ως αζωτούχο βάση τη G, έχει στο 3' άκρο του ελεύθερο υδροξύλιο και θα ενωθεί με 3' - 5' φωσφοδιεστερικό δεσμό με τη φωσφορική ομάδα που έχει στο 5' ελεύθερο άκρο του το νουκλεοτίδιο που φέρει ως αζωτούχο βάση την Α από το υβριδοποιημένο μόριο 2. Βέβαια το υβριδοποιημένο μόριο 2 βάση της κατεύθυνσης των αλυσίδων του μπορεί να ενωθεί με 2 τρόπους με το υβριδοποιημένο μόριο 1, γι' αυτό και προκύπτουν 2 διαφορετικά ανασυνδυασμένα μόρια. Έτσι :

Ανασυνδυασμένο μόριο 1:

5'- AAATGAAACCAGGATAAGAATTTCGGGGGGGC -3'
3'- TTTACTTTGGTCCT ATTCTTAAGCCCCCGTTAA -5'

Ανασυνδυασμένο μόριο 2:

5'- AAATGAAACCAGGATAAGAATTGCCCCCGG -3'
3'- TTTACTTTGGTCCT ATTCTTAACGGGGGGGCTTAA -5'

Γνωρίζουμε ότι η EcoRI, που απομονώθηκε από το βακτήριο *Escherichia coli*, όποτε συναντά την αλληλουχία:

5'-G A A T T C-3'
3'-C T T A A G-5'

στο γονιδίωμα, κόβει κάθε αλυσίδα μεταξύ του G και του A (με κατεύθυνση 5'→3') αφήνοντας μονόκλωνα άκρα από αζευγάρωτες βάσεις στα κομμένα άκρα.

Η αλληλουχία αυτή υπάρχει μία φορά στο ανασυνδυασμένο μόριο 1, οπότε και προκύπτουν μετά τη δράση της δυο διαφορετικά μόρια DNA. Δηλαδή:

5'- AAATGAAACCAGGATAAGAATTTCGGGGGGGC -3'
3'- TTTACTTTGGTCCT ATTCTTAAGCCCCCGTTAA -5'

Τα τμήματα που προκύπτουν είναι:

Τμήμα 1

5'- AAATGAAACCAGGATAAG -3'
3'- TTTACTTTGGTCCT ATTCTTAA -5'

Τμήμα 2

5'- AATTCGGGGGGGC -3'
3'- GCCCCCGTTAA -5'

Στο ανασυνδυασμένο μόριο 2 δεν υπάρχει καμία φορά η θέση αναγνώρισης της EcoRI.

Επομένως μετά τη δράση της EcoRI προκύπτουν συνολικά είτε 2 τμήματα DNA είτε 1 τμήμα DNA.