

ΤΑΞΗ: Γ΄ ΓΕΝΙΚΟΥ ΛΥΚΕΙΟΥ
ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΣ: ΘΕΤΙΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΜΑΘΗΜΑ: ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Ημερομηνία: Πέμπτη 5 Ιανουαρίου 2023
Διάρκεια Εξέτασης: 3 ώρες

ΕΚΦΩΝΗΣΕΙΣ

ΘΕΜΑ Α

Να γράψετε στο τετράδιο σας τον αριθμό καθεμιάς από τις παρακάτω ερωτήσεις Α1 έως Α5 και δίπλα το γράμμα που αντιστοιχεί στην σωστή επιλογή, αιτιολογώντας συνοπτικά όπου ζητείται.

- A1.** Ο αριθμός των ινιδίων της ατράκτου που ξεκινάνε από τον ένα πόλο του κυττάρου και καταλήγουν σε κεντρομερίδιο χρωμοσώματος, σε ανθρώπινο σωματικό κύτταρο είναι
1. ίδιος σε σωματικό κύτταρο στη μετάφαση της μίτωσης, σε σύγκριση με άωρο γεννητικό κύτταρο στη Μετάφαση Ι της μείωσης.
 2. διπλάσιος σε σωματικό κύτταρο στη μετάφαση της μίτωσης, σε σύγκριση με άωρο γεννητικό κύτταρο στη Μετάφαση Ι της μείωσης.
 3. ο μισός σε σωματικό κύτταρο στη μετάφαση της μίτωσης, σε σύγκριση με άωρο γεννητικό κύτταρο στη Μετάφαση Ι της μείωσης.
 4. διπλάσιος σε σωματικό κύτταρο στη Μετάφαση Ι της μείωσης, σε σύγκριση με τη Μετάφαση ΙΙ της μείωσης.

Μονάδες 5

- A2.** Watson και F. Crick μαζί με τον M. Wilkins κέρδισαν το βραβείο Νόμπελ Ιατρικής ή Φυσιολογίας το 1962 για τον προσδιορισμό της δομής του DNA στο χώρο. Ωστόσο η R. Franklin, ήταν αυτή που είχε πραγματοποιήσει τις κρυσταλλογραφικές μελέτες και είχε τραβήξει την περίφημη φωτογραφία 51, στα δεδομένα της οποίας στηρίχθηκαν οι Watson και Crick για να διαπιστώσουν το μοντέλο της διπλής έλικας. Η φωτογραφία έφτασε σε αυτούς μέσω του M. Wilkins, χωρίς την άδεια και την γνώση της R. Franklin.
- Τι αποκάλυψε η φωτογραφία 51 στους Watson και Crick;



Εικόνα 1

1. ότι $A=T$ και $G=C$ σε πλήθος για κάθε μόριο DNA οποιουδήποτε οργανισμού
2. η ακολουθία των νουκλεοτιδικών βάσεων περιέχει την γενετική πληροφορία
3. οι δύο κλώνοι του DNA είναι αντιπαράλληλοι και συμπληρωματικοί
4. το μόριο του DNA είναι δίκλωνο, με τις φωσφορικές ομάδες προς το εξωτερικό του μορίου, τις αζωτούχες βάσεις προς το εσωτερικό του μορίου και αποκαλύπτει ότι απέναντι από μια πουρίνη (A, G) υπάρχει πάντα μια πυριμιδίνη (C, T).

Μονάδες 5

A3. Στα βακτήρια του είδους *E.coli*, υπάρχει το οπερόνιο βιοσύνθεσης του αμινοξέος τρυπτοφάνη. Το οπερόνιο αυτό, περιλαμβάνει ένα ρυθμιστικό γονίδιο και πέντε δομικά.

1. Το οπερόνιο αυτό είναι ενεργό, όταν υπάρχει υψηλή συγκέντρωση της τρυπτοφάνης στο θρεπτικό υλικό του βακτηρίου.
2. Το οπερόνιο αυτό είναι ενεργό, όταν υπάρχει χαμηλή συγκέντρωση της τρυπτοφάνης στο θρεπτικό υλικό του βακτηρίου.
3. Ο χείριστής του οπερονίου ελέγχει την έκφραση του ρυθμιστικού γονιδίου του οπερονίου.
4. Τα δομικά γονίδια κωδικοποιούν για ένζυμα τα οποία διασπούν το αμινοξύ τρυπτοφάνη.

Μονάδες 5

A4. Κατά την μετουσίωση της αλβουμίνης..

1. σπάνε οι δεσμοί μεταξύ των ομάδων R
2. σπάνε οι φωσφοδιεστερικοί της δεσμοί
3. καταστρέφεται η πρωτοταγή της δομή
4. σπάνε οι πεπτιδικοί της δεσμοί.

Να αιτιολογήσετε συνοπτικά την απάντησή σας.

Μονάδες (3+2) 5

A5. Ο γενετικός κώδικας είναι σχεδόν καθολικός.

Να χαρακτηρίσετε ως Σωστή (Σ) ή ως Λανθασμένη (Λ) την καθεμία από τις παρακάτω προτάσεις. Η επιλογή σας να γίνει σύμφωνα με το εάν βρίσκει εφαρμογή ή όχι η παραπάνω ιδιότητα του γενετικού κώδικα.

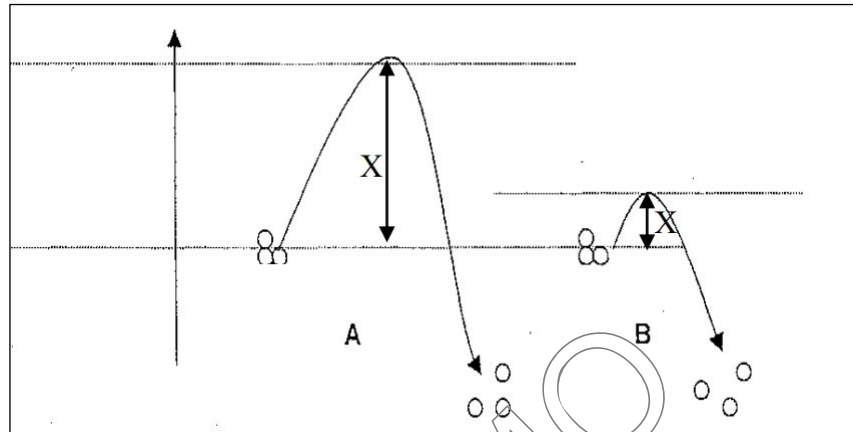
1. Κατασκευή γονιδιωματικής βιβλιοθήκης.
2. Κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης.
3. Παραγωγή ανθρώπινης πρωτεΐνης από βακτηριακό κλώνο μιας cDNA βιβλιοθήκης.
4. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

Να αιτιολογήσετε συνοπτικά μόνο την/τις σωστές προτάσεις.

Μονάδες (4+1) 5

ΘΕΜΑ Β

B1. Η παρακάτω εικόνα (Εικόνα 2) παρουσιάζει το συγκριτικό αποτέλεσμα της συμμετοχής ενός ενζύμου στην αντίδραση διάσπασης ενός πολυμερούς στα μονομερή του.

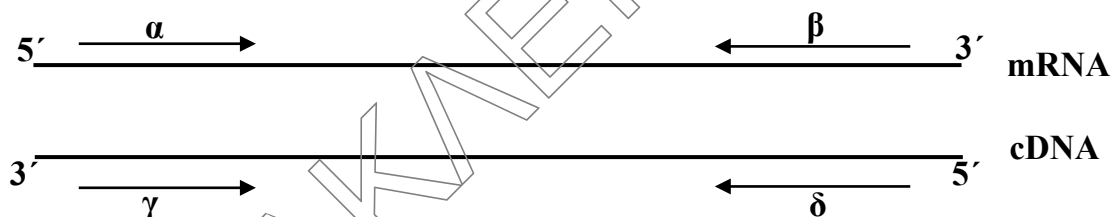


Εικόνα 2

- α) Να ονομάσετε και να εξηγήσετε τι παρουσιάζει το βέλος που δηλώνεται με το γράμμα X στην περίπτωση A και στην περίπτωση B.
- β) Πώς εξηγείται το γεγονός ότι μια μικρή ποσότητα ενζύμου μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη διεξαγωγή μιας αντίδρασης, στην οποία μετέχει πολλαπλάσια ποσότητα υποστρώματος;

Μονάδες (4+2) 6

- B2.** Στην εικόνα 3, η οποία παρουσιάζεται αμέσως παρακάτω, απεικονίζεται ένα υβριδικό μόριο mRNA-cDNA:



Εικόνα 3

Ποια από τα παραπάνω βέλη αντιστοιχούν στην πορεία του ενζύμου που καταλύει τη διαδικασία, η οποία απεικονίζεται στην παραπάνω εικόνα (Εικόνα 3);

Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

Μονάδες (2+4) 6

Στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 4) παρατηρείται ανασυνδυασμένο πλασμίδιο που φέρει τμήμα ξένου, αγνώστου αλληλουχίας DNA, μήκους 3000 ζ.β.. Μέσα στον φορέα κλωνοποίησης, ακριβώς «πριν» το ξένο DNA υπάρχουν οι μοναδικές θέσεις αναγνώρισης για τα ένζυμα *Bam*HI και *Pst*II.

Προκειμένου να δημιουργηθεί ο χάρτης περιορισμού (προσδιορισμός πιθανών θέσεων αναγνώρισης των περιοριστικών ενδονουκλεασών, στο ξένο τμήμα DNA) πραγματοποιούνται οι εξής πέψεις (κάθε ένζυμο ξεχωριστά):

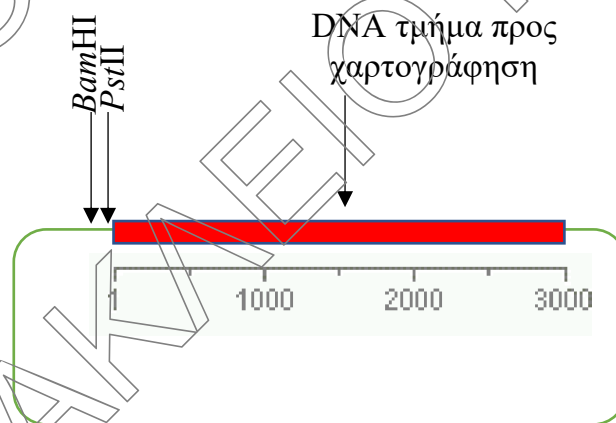
Η πέψη με *Pst*II δίνει δύο τμήματα: 1000 ζ.β και ένα μεγαλύτερου μήκους (έστω τμήμα Α).

Η πέψη με *Bam*HI δίνει τρία τμήματα: 600 ζ.β., 2200 ζ.β. και ένα μεγαλύτερου μήκους (έστω τμήμα Α').

(Το τμήμα Α έχει διαφορετικό μήκος ζ.β. από το Α')

Για την ολοκλήρωση του χάρτη περιορισμού κόβουμε το πλασμίδιο και με τα δύο (2) ένζυμα ταυτόχρονα. Η διπλή αυτή πέψη δίνει τμήματα με 600, 1000, 1200 ζ.β και το τμήμα μεγαλύτερου μήκους Α και Α'.

- B3.** Να μεταφέρετε την εικόνα 4 στην απαντητική σας κόλλα και να προσδιορίσετε τις πιθανές θέσεις πέψης των δύο ενζύμων πάνω στο σχήμα, ώστε να επαληθεύονται τα αποτελέσματα. Δεν απαιτείται αιτιολόγηση.



Εικόνα 4

Μονάδες 7

B4. Μια αποικία βακτηρίων που δεν περιέχουν πλασμίδια και συνίσταται από 10^6 κύτταρα περιέχει στο συνολικό της DNA $0,8 \text{ ng } ^{31}\text{P}$. Η αποικία μεταφέρεται και αναπτύσσεται σε νέο θρεπτικό υλικό, όπου ο φώσφορος βρίσκεται κατά 50% με τη μορφή ραδιενεργού ισότοπου ^{32}P . Να βρείτε πόσα $\text{ng } ^{31}\text{P}$ και πόσα $\text{ng } ^{32}\text{P}$ θα υπάρχουν στο γενετικό υλικό των κυττάρων που θα προκύψουν:

- α)** Μετά τον πρώτο διπλασιασμό των κυττάρων της αρχικής καλλιέργειας.
- β)** Μετά τον δεύτερο διπλασιασμό των κυττάρων της αρχικής καλλιέργειας.

Μονάδες (3+3) 6

ΘΕΜΑ Γ

Στο εργαστήριο Μοριακής Μικροβιολογίας του Παν. Θεσσαλίας, απομονώθηκε από ένα νέο βακτηριακό είδος, που ανακαλύφθηκε στην άμμο της παραλίας Εγκρεμνοί στο Ιόνιο πέλαγος, το μοναδικό του πλασμίδιο μήκους 4600 ζ.β. Το βακτήριο αυτό, ζει παρασιτικά στα καβούρια και άλλα καρκινοειδή, και ελέγχεται στο εργαστήριο για την παραγωγή νέων αντιβιοτικών. Επιχειρήθηκε η κλωνοποίηση του πλασμιδίου *in vivo* και *in vitro*. Το πλασμίδιο (Εικόνα 5) αυτό, δεν αντιγράφεται πάρα μια μόνο φορά εντός του βακτηρίου που αποτελεί τον φυσικό του ξενιστή, μάλιστα το κάθε νέο βακτήριο φέρει πάντα μόνο ένα πλασμίδιο. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι το πλασμίδιο διαθέτει μοναδική θέση *EcoRI* εντός της ΘΕΑ του, και ένα γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό ριφαμπικίνη.

Για την κλωνοποίηση *in vivo*, επιλέχθηκε ως ξενιστής το βακτήριο *E. coli*, το οποίο στερείται πλασμιδίων ανθεκτικότητας σε οποιοδήποτε αντιβιοτικό και επιπλέον δεν διαθέτει περιοριστικά ένζυμα. Ωστόσο, διαπιστώθηκε ότι εντός αυτών των ξενιστών, το συγκεκριμένο πλασμίδιο αντιγράφεται πάντα δυο φορές.

- α.** Πώς θα γίνει η κλωνοποίηση του πλασμιδίου *in vivo*; Τοποθετήστε τα βήματα που θα ακολουθηθούν με τη σωστή διαδοχή.
 - i.** Λήψη κυττάρων των αποικιών και εμβολιασμός θρεπτικού υλικού κατάλληλου για *E. coli* και σε κατάλληλες συνθήκες.
 - ii.** Απομόνωση πλασμιδίων από την τελευταία υγρή καλλιέργεια.
 - iii.** Μετασχηματισμός υγρής καλλιέργειας *E. coli* ξενιστή.
 - iv.** Απομόνωση πλασμιδίου από το φυσικό βακτήριο ξενιστή του.
 - v.** Επίστροφή της υγρής καλλιέργειας σε στερεό θρεπτικό υλικό παρουσία ριφαμπικίνης.
 - vi.** Ανάπτυξη αποικιών *E. coli*.

Μονάδες 6

β. Να συμπληρώσετε τον παρακάτω πίνακα που περιλαμβάνει τα στάδια προγραμματισμού ενός κύκλου αντιγραφής στην PCR καθώς και τις αντίστοιχες θερμοκρασίες που πραγματοποιούνται, με τις εξής έννοιες και θερμοκρασίες:

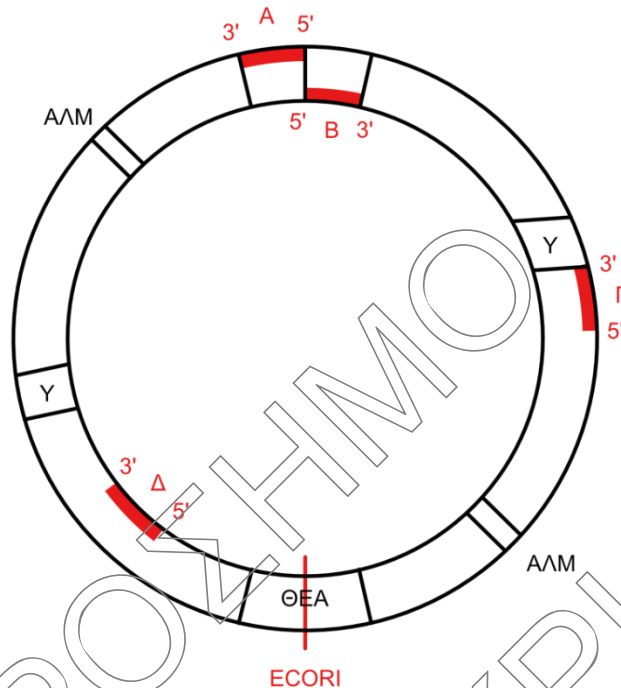
- Υβριδισμός εκκινητών (primer) (Annealing)
- Αποδιάταξη DNA (denaturation)
- Επιμήκυνση (Extending)
- 72°C
- 95°C
- 60°C

Στάδια κύκλου	Διεργασία	Θερμοκρασία πραγματοποίησης
1°		
2°		
3°		

Δίνεται ότι το βακτήριο (*Thermus aquaticus*) από το οποίο απομονώθηκε η DNA πολυμεράση (*Taq polymerase*), επιβιώνει και αναπαράγεται σε θερμοκρασίες άνω των 70°C.

Μονάδες 3

γ. Σε μία αντίδραση *in vitro* αντιγραφής το μόνο ένζυμο της αντιγραφής που συμμετέχει είναι η DNA πολυμεράση, που επιμηκώνει τα πρωταρχικά τμήματα. Τα πρωταρχικά τμήματα *in vitro*, είναι δυο διαφορετικές μονόκλωνες ολιγονουκλεοτιδικές αλληλουχίες DNA. Ποιο ζεύγος εκκινητικών αλληλουχιών (από τα Α, Β, Γ, Δ) επέλεξαν οι ερευνητές για την *in vitro* αντιγραφή του πλασμιδίου, η οποία επαναλήφθηκε για 30 κύκλους;



Εικόνα 5

Υπόμνημα: Όπου τα Α, Β, Γ, Δ, τα υποψήφια πρωταρχικά τμήματα, και οι θέσεις υβριδοποίησης τους στο πλασμίδιο.

Μονάδες 4

- δ. Τα προϊόντα των δύο κλωνοποιήσεων του πλασμιδίου, αφού δέχθηκαν την επίδραση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης *EcoRI*, διαχωρίστηκαν με βάση το μήκος τους.

Ο ένας τρόπος κλωνοποίησης απέδωσε με βάση τους παραπάνω χειρισμούς, μόρια DNA, που όλα είχαν μήκους 4596 ζ.β.. Ο άλλος τρόπος κλωνοποίησης απέδωσε, μετά τη δράση της Π.Ε., δυο διαφορετικούς κλώνους θραυσμάτων, μήκους 2298 ζ.β. το καθένα.

Πώς εξήγησαν οι επιστήμονες τα αποτελέσματα;

Μονάδες 6

- ε. Πόσα αντίγραφα του πλασμιδίου προέκυψαν *in vivo*, σε μια αποικία μετασχηματισμένων βακτηρίων *E.coli*, αν κάθε αποικία αποτελείται από 2^{28} κύτταρα; Πόσα αντίγραφα του πλασμιδίου πήραμε από την κλωνοποίηση *in vitro*, αν θεωρήσουμε ότι το αρχικό πλήθος πλασμιδίων με το οποίο έγινε η εκκίνηση της αντίδρασης ήταν 1024;

Μονάδες 6

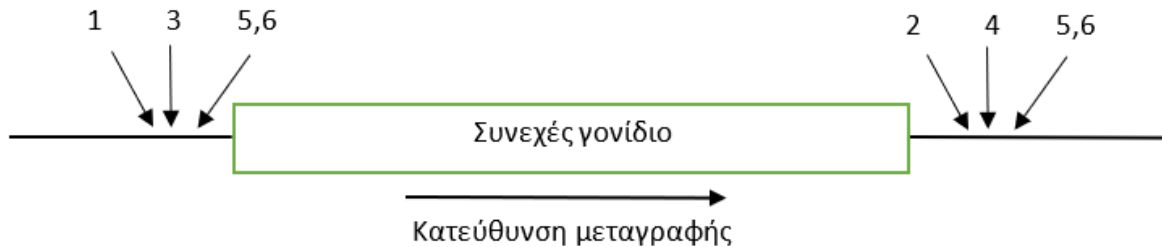
ΘΕΜΑ Δ

Η επιλογή των ενζύμων περιορισμού πραγματοποιείται με βάση το στόχο που έχει η πειραματική διαδικασία. Ανάλογα το ζητούμενο θα μπορούσαν να κριθούν ως κατάλληλοι διαφορετικοί συνδυασμοί ακόμα και περισσότεροι του ενός. Ως υπεύθυνοι εργαστηρίου έχετε στη διάθεσή σας 6 περιοριστικές ενδονουκλεάσες, όπως φαίνονται στον παρακάτω πίνακα και οι οποίες παρουσιάζουν την ίδια ικανότητα σύνδεσης με το DNA και δρουν ιδανικά στις συνθήκες θερμοκρασίας που πραγματοποιείται η πειραματική διαδικασία.

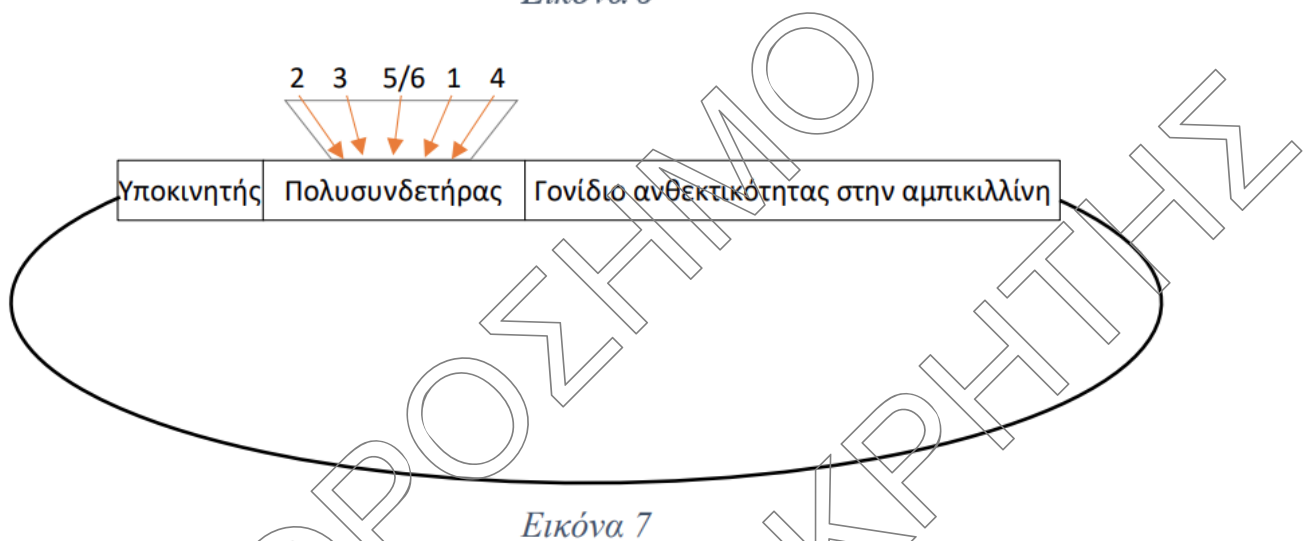
Περιοριστική ενδονουκλεάση	Αλληλουχία αναγνώρισης
1. <i>Bam</i> HI	5'G*GATCC3'
2. <i>Bgl</i> II	5'A*GATCT3'
3. <i>Taq</i> I	5'T*CGA3'
4. <i>Hha</i> I	5'G*CGC3'
5. <i>Hpa</i> II	5'C*CGG3'
6. <i>Msp</i> I	5'C*CGG3'

Με αστερίσκο (*) σημειώνεται η θέση κοπής του ενζύμου

Στην εικόνα 6 δίνεται συνεχές γονίδιο που πρόκειται να απομονωθεί και να ανασυνδυαστεί σε φορέα κλωνοποίησης καθώς και το σημείο (πολυσυνδετήρας) στο φορέα κλωνοποίησης (Εικόνα 7) όπου πρόκειται να γίνει η ένθεση. Το πλασμίδιο αυτό φέρει θέσεις κοπής για τα παραπάνω ένζυμα περιορισμού και βρίσκεται ακριβώς μετά τον υποκινητή του γονιδίου ανθεκτικότητας στην αμικικιλίνη (*amp*). Το στέλεχος του βακτηρίου το οποίο επιλέχτηκε ως ξενιστής διαθέτει όλους τους μεταγραφικούς παράγοντες ώστε να εκφράζει το συγκεκριμένο γονίδιο.



Εικόνα 6



Εικόνα 7

Οι πιθανοί στόχοι της πειραματικής διαδικασίας που θα ακολουθήσετε είναι οι εξής:

1^{ον} Ο ανασυνδυασμός του γονιδίου στο φορέα με σκοπό την κλωνοποίησή του (έστω Στόχος **K**)

2^{ον} Ο ανασυνδυασμός του γονιδίου στο φορέα με σκοπό την κλωνοποίησή του αλλά και τη δυνατότητα απομόνωσής του εκ νέου από το φορέα (έστω Στόχος **A**).

3^{ον} Ο ανασυνδυασμός του γονιδίου στο φορέα με σκοπό την έκφρασή του και παραγωγή της πολυπεπτιδικής αλυσίδας (έστω Στόχος **E**)

Δ1. Να μεταφέρετε τον παρακάτω πίνακα στην απαντητική σας κόλλα και να συμπληρώσετε τα κελιά ώστε να δηλώνετε σε θεωρητικό επίπεδο, πιθανούς συνδυασμούς χρήσης περιοριστικών ενδονουκλεασών που επιλέχτηκαν για την απομόνωση του γονιδίου (κάθετη στήλη) και παράλληλα πιθανών συνδυασμών περιοριστικών ενδονουκλεασών που επιλέχτηκαν για την πέψη του φορέα (οριζόντια στήλη) χρησιμοποιώντας τα γράμματα **K**, **A** και **E** όπως φαίνεται στο παράδειγμα ανεξαρτήτως αν πραγματοποιούνται ταυτόχρονα ή ανά περίπτωση. Στις περιπτώσεις που είναι αδύνατος ο συνδυασμός για την επίτευξη οποιουδήποτε από τους παραπάνω στόχους βάζετε παύλα (-).

Φορέας Γονίδιο	1 και 2	1 και 4	1 και 6	3 και 2	3 και 4	3 και 6	5 και 2	5 και 4	5 και 6
1 και 2									
1 και 4									
1 και 6									
3 και 2				Κ, Α					
3 και 4									
3 και 6									
5 και 2									
5 και 4									
5 και 6									

Μονάδες (0,2/σωστή απάντηση) 16

- Δ2.** Στο δοσμένο παράδειγμα παρατηρείται ότι με τη χρήση των συγκεκριμένων συνδυασμών επιτυγχάνεται ο ανασυνδυασμός και η εκ νέου απομόνωση του γονιδίου, ενώ δεν επιτυγχάνεται η έκφρασή του. Να αιτιολογήσετε γιατί συμβαίνουν τα παραπάνω.

Μονάδες 4

- Δ3.** Σε ορισμένες περιπτώσεις συνδυασμών περιοριστικών ενδονουκλεασών του ερωτήματος Δ1 προκύπτει ότι εξυπηρετούνται και οι τρεις στόχοι. Από την άλλη πλευρά, η εφαρμογή σε πειραματικό επίπεδο έδειξε ότι ορισμένοι κλώνοι που προέκυψαν από μετασχηματισμένα βακτήρια με ανασυνδυασμένους φορείς, αδυνατούσαν να εκφράσουν το επιθυμητό γονίδιο και δεν παράγονταν το προϊόν. Σε ποια ή ποιες περιπτώσεις συνδυασμών χρήσης ενζύμων περιορισμού, όλοι οι κλώνοι θα παρήγαγαν το γονιδιακό προϊόν;

Μονάδες 5