

## ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ

### ΖΗΤΗΜΑ ΠΡΩΤΟ

1γ, 2γ, 3β, 4δ, 5γ

### ΖΗΤΗΜΑ ΔΕΥΤΕΡΟ

1. Β= φορέας (ετερόζυγος) για β-θαλασσαιμία

Γ= ασθενής (ομόζυγος) για β-θαλασσαιμία

Δ= φορέας (ετερόζυγος) για δρεπανοκυτταρική αναιμία

Ε= ασθενής (ομόζυγος) για δρεπανοκυτταρική αναιμία

Z= ασθενής με α-θαλασσαιμία

2. Η διασταύρωση που μπορεί να αποκαλύψει αν το γνώρισμα είναι αυτοσωμικό ή φυλοσύνδετο είναι αυτή ανάμεσα σε λευκό θηλυκό και καφέ αρσενικό. Αν το γνώρισμα είναι αυτοσωμικό, κάθε απόγονος θα κληρονομήσει ένα επικρατές αλληλόμορφο για καφέ χρώμα από τον πατέρα και ένα υπολειπόμενο αλληλόμορφο για λευκό χρώμα από τη μητέρα, επομένως όλοι οι απόγονοι θα είναι καφέ. Αντιθέτως, αν το γνώρισμα είναι φυλοσύνδετο, οι θηλυκοί απόγονοι θα είναι καφέ, έχοντας κληρονομήσει ένα X χρωμόσωμα από κάθε γονέα, άρα ένα αλληλόμορφο για καφέ χρώμα από τον πατέρα κι ένα αλληλόμορφο για λευκό χρώμα από τη μητέρα. Οι αρσενικοί απόγονοι όμως φέρουν μόνο ένα X χρωμόσωμα, το οποίο προέρχεται από τη μητέρα, επομένως θα γεννηθούν με λευκό χρώμα.

K=καφέ

K=λευκό

Αυτοσωμικό P: KK X κκ

Γαμέτες K κ

F1 Kk

Φαινοτυπική αναλογία: 100% καφέ

Φυλοσύνδετο P: X<sup>K</sup>X<sup>K</sup> X X<sup>K</sup>Y

Γαμέτες X<sup>K</sup> X<sup>K</sup>, Y

F1 X<sup>K</sup>X<sup>K</sup>, X<sup>K</sup>Y

Φαινοτυπική αναλογία: θηλυκά 100% καφέ, αρσενικά 100% λευκά

3. Τα άλλα βιοχημικά δεδομένα της ίδιας περιόδου που υποστήριζαν ότι το DNA αποτελεί το γενετικό υλικό των οργανισμών είναι: 1) Το DNA είναι σταθερό σε ποσότητα και δεν επηρεάζεται από περιβαλλοντικές μεταβολές. Επίσης, η ποσότητα του DNA είναι η ίδια σε όλα τα κύτταρα ενός οργανισμού, π.χ. στον άνθρωπο στα κύτταρα της καρδιάς, του σπλήνα, των πνευμόνων κλπ. 2) Στους ανώτερους οργανισμούς, οι γαμέτες, που είναι απλοειδή κύτταρα, έχουν τη μισή ποσότητα DNA από τα σωματικά κύτταρα, που είναι διπλοειδή. Οι εξελικτικές σχέσεις μεταξύ των οργανισμών αναμένεται να αποκαλυφθούν με τη χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος, σε συνδυασμό με ανάλογα προγράμματα για άλλα είδη οργανισμών, όπως του σκύλου, του προβάτου, της αγελάδας, του γαιοσκώληκα, διάφορων εντόμων και μικροοργανισμών. Η σύγκριση των γονιδιωμάτων μπορεί να συνεισφέρει σημαντικά δεδομένα για την εξέλιξη του ανθρώπινου γονιδιώματος και τις εξελικτικές σχέσεις με άλλα είδη οργανισμών.

4. Τα κύρια ένζυμα της αντιγραφής είναι οι DNA πολυμεράσες. Τα ένζυμα αυτά όμως δεν έχουν τη δυνατότητα να αρχίσουν την αντιγραφή, οπότε τα κύτταρα έχουν ένα ειδικό σύμπλοκο από πολλά ένζυμα, το πριμόσωμα, το οποίο συνθέτει μικρά τμήματα RNA, συμπληρωματικά προς τις μητρικές αλυσίδες, στις θέσεις έναρξης αντιγραφής, που ονομάζονται πρωταρχικά τμήματα. Τα τμήματα αυτά ονομάζονται πρωταρχικά τμήματα και επιμηκύνονται από τις DNA πολυμεράσες. Έτσι, το υδροξύλιο του 3' άνθρακα της ριβόζης του τελευταίου ριβονουκλεοτιδίου του πρωταρχικού τμήματος συνδέεται με την φωσφορική ομάδα του 5' άνθρακα της δεοξυριβόζης του πρώτου δεοξυριβονουκλεοτιδίου που τοποθετεί η DNA πολυμεράση. Αναπτύσσεται έτσι 3'-5' φωσφοδιεστερικός δεσμός μεταξύ ριβο-και δεοξυριβονουκλεοτιδίου.

### ΖΗΤΗΜΑ ΤΡΙΤΟ

A1. Η χοριακή γοναδοτροπίνη εισάγεται με ένεση σε ποντικό, οπότε αρχίζει ανοσοβιολογική απόκριση και παράγονται αντισώματα από εξειδικευμένα Β-λεμφοκύτταρα. Δύο εβδομάδες μετά, αφαιρείται ο σπλήνας του ποντικού και απομονώνονται τα Β-λεμφοκύτταρα, τα οποία συντήκονται με καρκινικά κύτταρα και προκύπτουν έτσι τα υβριδώματα. Τα υβριδώματα μπορούν να παράγουν στο εργαστήριο μονοκλωνικά αντισώματα, που αναγνωρίζουν τη χοριακή γοναδοτροπίνη, και μπορούν επίσης να διατηρηθούν στους -80°C, και να χρησιμοποιηθούν ανά πάσα στιγμή στο μέλλον. Τα αντισώματα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη ενός ειδικού ανοσοδιαγνωστικού τεστ, με το οποίο μπορεί να εντοπιστεί η χοριακή γοναδοτροπίνη κι έτσι να εξακριβωθεί μια πιθανή κύηση.

A2. Από κύτταρα ανθρώπινου πλακούντα απομονώνεται το συνολικό ώριμο mRNA, το οποίο χρησιμοποιείται για την κατασκευή δίκλωνων μορίων DNA, τα οποία ενσωματώνονται σε πλασμίδια. Με τα ανασυνδυασμένα αυτά πλασμίδια μετασχηματίζονται βακτήρια, τα οποία στη συνέχεια αναπτύσσονται σε υγρό θρεπτικό υλικό. Έτσι δημιουργείται μία cDNA βιβλιοθήκη, από την οποία επιλέγουμε τον κλώνο που περιέχει το γονίδιο της χοριακής γοναδοτροπίνης, με χρήση κατάλληλου ιχνηθετημένου ανιχνευτή. Τα βακτήρια αυτά εισάγονται και πολλαπλασιάζονται σε βιοαντιδραστήρα, για τη συλλογή και τον καθαρισμό της χοριακής γοναδοτροπίνης.

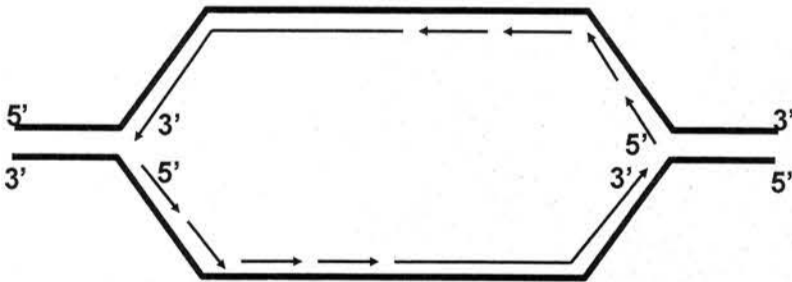
A3. Ο προγεννητικός έλεγχος γίνεται είτε με αμνιοπαρακέντηση είτε με λήψη χοριακών λαχνών. Στη δεύτερη περίπτωση, απομονώνονται εμβρυϊκά κύτταρα από τις προεκβολές (λάχνες) του χορίου, το οποίο είναι εμβρυϊκή μεμβράνη, που συμμετέχει στον σχηματισμό του πλακούντα. Τα κύτταρα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο για ανάλυση χρωμοσωμάτων σε καρυότυπο, όσο και για βιοχημικές δοκιμασίες και ανάλυση DNA, όπως στην περίπτωση της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας. Γίνεται από την 9<sup>η</sup> ως τη 12<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης, άρα είναι πιο έγκαιρη από την αμνιοπαρακέντηση, αν και δίνει χρωμοσώματα χαμηλότερης ποιότητας.

B1. Τα χρωμοσώματα μπορούν να μελετηθούν μόνο στο στάδιο της μετάφασης της μίτωσης, επειδή τότε αποκτούν τον μέγιστο βαθμό συσπείρωσης και είναι ευδιάκριτα. Όμως, σε έναν πληθυσμό διαιρούμενων κυττάρων, το ποσοστό αυτών που βρίσκονται στη μετάφαση είναι μικρό. Έτσι, χρησιμοποιούνται ουσίες που σταματούν την κυτταρική διαίρεση στη φάση αυτή. Η κολχικίνη λοιπόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για το σκοπό αυτό.

B2. Τα μονοκλωνικά αντισώματα έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως θεραπευτικά, ιδίως εναντίον του καρκίνου. Τα καρκινικά κύτταρα φέρουν στην επιφάνειά τους τα λεγόμενα καρκινικά αντιγόνα, που δεν υπάρχουν στα φυσιολογικά κύτταρα. Μπορούν έτσι να κατασκευαστούν ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα για τα καρκινικά αντιγόνα, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μεταφορείς ισχυρών αντικαρκινικών φαρμάκων, όπως η κολχικίνη. Με την είσοδό τους στον οργανισμό, τα μονοκλωνικά αντισώματα συνδέονται εκλεκτικά με τα καρκινικά αντιγόνα και τα φάρμακα καταστρέφουν ειδικά τα καρκινικά κύτταρα. Έτσι θα μπορούσαν να αποφευχθούν οι χειρουργικές επεμβάσεις και οι δυσάρεστες παρενέργειες της κλασικής χημειοθεραπείας.

### ΖΗΤΗΜΑ ΤΕΤΑΡΤΟ

1.



Οι DNA πολυμεράσες λειτουργούν προς ορισμένη κατεύθυνση, προσθέτοντας νουκλεοτίδια στο ελεύθερο υδροξύλιο του 3' άνθρακα της πεντόζης του τελευταίου νουκλεοτιδίου κάθε αναπτυσσόμενης αλυσίδας. Έτσι, η κατεύθυνση της αντιγραφής είναι 5'→3' και κάθε νέα αλυσίδα έχει προσανατολισμό 5'→3'. Οι δύο αλυσίδες κάθε νέου μορίου είναι επομένως αντιπαράλληλες. Για να ακολουθηθεί ο κανόνας αυτός, σε κάθε τμήμα DNA που αντιγράφεται θα πρέπει η αντιγραφή να γίνεται στην μία αλυσίδα συνεχώς και στην άλλη ασυνεχώς. Τα τμήματα της ασυνεχούς αλυσίδας συνδέονται με τη βοήθεια της DNA δεσμάσης, ένα ειδικό ένζυμο, που συνδέει επίσης τα τμήματα που προκύπτουν από τις διάφορες θέσεις έναρξης της αντιγραφής.

2. Η RNA πολυμεράση συνδέεται στον υποκινητή και προκαλεί τοπικό ξετύλιγμα της διπλής έλικας του DNA του γονιδίου. Έπειτα τοποθετεί ριβονουκλεοτίδια απέναντι από τα δεοξυριβονουκλεοτίδια της μίας αλυσίδας του DNA σύμφωνα με τους κανόνες της συμπληρωματικότητας, όπως γίνεται και στην αντιγραφή, μόνο που εδώ απέναντι από αδενίνη τοποθετεί ουρακίλη. Τα νουκλεοτίδια συνδέονται διαδοχικά με 3'-5' φωσφοδιεστερικό δεσμό, άρα η κατεύθυνση της μεταγραφής είναι 5'→3', όπως και στην αντιγραφή. Η μεταγραφή τελειώνει όταν η RNA πολυμεράση συναντήσει τις ειδικές αλληλουχίες λήξης της μεταγραφής, στο τέλος του γονιδίου, που επιτρέπουν την απελευθέρωση του mRNA. Η αλυσίδα που μεταγράφεται είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη με το mRNA και ονομάζεται μη κωδική. Η άλλη αλυσίδα του γονιδίου ονομάζεται κωδική και προφανώς είναι πανομοιότυπη με το mRNA, αλλά έχει θυμίνη αντί για ουρακίλη. Καθώς ο υποκινητής βρίσκεται στο αριστερό άκρο του γονιδίου, η κατεύθυνση της μεταγραφής είναι 5'→3' από αριστερά προς δεξιά. Επομένως, κωδική είναι η πάνω αλυσίδα, αφού έχει τον ίδιο προσανατολισμό με το mRNA και μεταγραφόμενη η κάτω, που είναι αντιπαράλληλη. Έτσι τα κωδικόνια σε αυτό το τμήμα του mRNA είναι 5'-AAU-UGU-CUC-3' και κωδικοποιούν τα αμινοξέα ασπαραγίνη-κυστεΐνη-λευκίνη.

3. Το δεύτερο κωδικόνιο στην κωδική αλυσίδα του γονιδίου είναι το TGT. Εφόσον αντικαθίσταται η τρίτη βάση, διακρίνουμε τις παρακάτω περιπτώσεις:

α) Αντικατάσταση της T από C. Το αντίστοιχο κωδικόνιο του mRNA γίνεται έτσι UGC, το οποίο είναι συνώνυμο κωδικόνιο με το αρχικό και κωδικοποιεί επίσης το αμινοξύ κυστεΐνη. Η μετάλλαξη αυτή είναι σιωπηλή και δεν αλλάζει την αλληλουχία αμινοξέων της πρωτεΐνης.

β) Αντικατάσταση της T από A. Το κωδικόνιο γίνεται έτσι UGA, το οποίο είναι κωδικόνιο λήξης. Άρα θα τερματιστεί πρόωρα η σύνθεση της πρωτεΐνης και πιθανότατα θα χαθεί και η λειτουργικότητά της.

γ) Αντικατάσταση της T από G. Το δεύτερο κωδικόνιο του τμήματος γίνεται έτσι UGG, το οποίο κωδικοποιεί το αμινοξύ τρυπτοφάνη. Επομένως, η παραγόμενη πρωτεΐνη θα διαφέρει κατά ένα αμινοξύ από τη φυσιολογική. Οι επιπτώσεις στην περίπτωση αυτή δεν είναι δεδομένες. Αν το αμινοξύ που αλλάζει βρίσκεται π.χ. μέσα ή κοντά στο ενεργό κέντρο ενός ενζύμου, μπορεί να μειωθεί ή να μηδενιστεί η ενεργότητά του, δηλαδή η ικανότητά του να καταλύει αντιδράσεις. Σε άλλες περιπτώσεις πρωτεϊνών, μπορεί να αλλοιώνεται η δομή και να επηρεάζεται η λειτουργικότητά τους, όπως π.χ. στην HbS στη δρεπανοκυτταρική αναιμία. Πολλές φορές πάλι μια τέτοια μετάλλαξη αποδεικνύεται ουδέτερη, καθώς μπορεί να έχει ελάχιστη επίπτωση στη στερεοδιάταξη και στη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης.