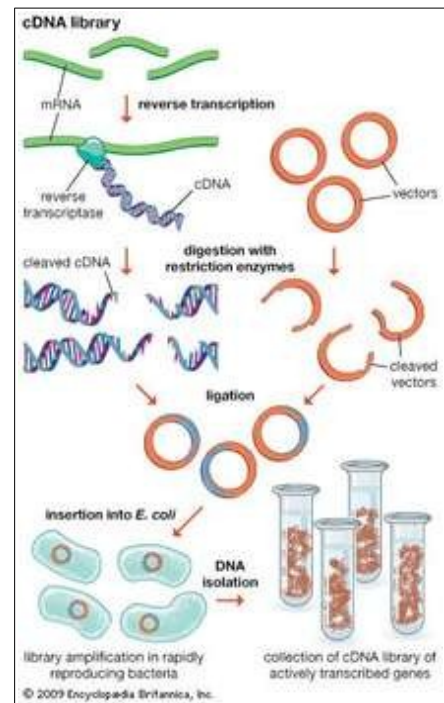
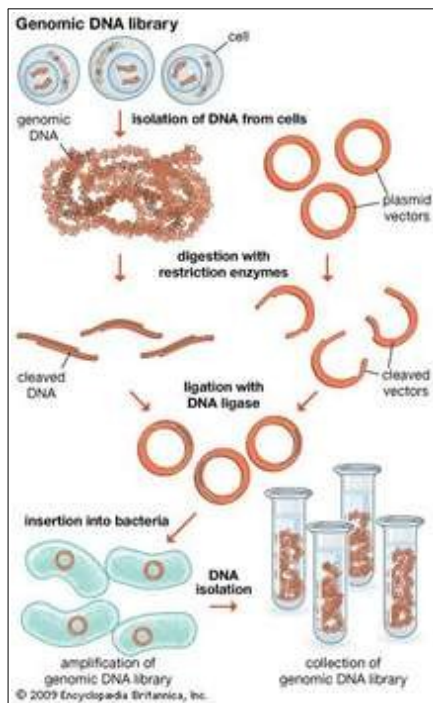


Βιολογία προσανατολισμού

κεφ.4



τάκης Γιώργος - Βιολόγος
2018-2019



ΘΕΜΑ 4ο

Δίνεται δίκλωνο μόριο DNA το οποίο περιέχει τμήμα ασυνεχούς γονιδίου που μεταγράφεται σε mRNA.



- α) Πού συναντάμε ασυνεχή γονίδια; (μονάδες 2)
- β) Να προσδιορίσετε τα 3' και 5' άκρα του παραπάνω μορίου DNA. (μονάδες 2) Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας. (μονάδες 4)
- γ) Να γράψετε το τμήμα του πρόδρομου mRNA και του ώριμου mRNA που προκύπτουν από τη μεταγραφή του παραπάνω μορίου DNA, χωρίς αιτιολόγηση. (μονάδες 2)
- δ) Πώς προκύπτει το ώριμο mRNA; (μονάδες 3)
- ε) Μπορεί η περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI να κόψει το παραπάνω τμήμα DNA; (μονάδα 1) Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας. (μονάδες 3)
- στ) Ποιες κατηγορίες γονιδίων που υπάρχουν στο χρωμοσωμικό DNA ενός κυτταρικού τύπου δεν κλωνοποιούνται σε cDNA βιβλιοθήκη; (μονάδες 8)

Μονάδες 25

ΘΕΜΑ Γ

Ένα πλασμίδιο, που χρησιμοποιείται ως φορέας κλωνοποίησης ενός τμήματος DNA, έχει ένα γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό αμπικιλίνη και ένα γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό τετρακυκλίνη. Το γονίδιο ανθεκτικότητας στην τετρακυκλίνη περιέχει την αλληλουχία που αναγνωρίζεται από την περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI. Δημιουργούμε ανασυνδυασμένα πλασμιδία με τη χρήση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης EcoRI. Τα

ανασυνδυασμένα πλασμιδία χρησιμοποιήθηκαν για το μετασχηματισμό βακτηρίων που δεν είχαν κανένα πλασμίδιο. Στη συνέχεια τα βακτήρια καλλιεργούνται σε θρεπτικό υλικό.

Γ1. Ποια βακτήρια επιζούν, αν στο θρεπτικό υλικό της καλλιέργειας προσθέσουμε το αντιβιοτικό αμπικιλίνη (μονάδα 1); Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 5).

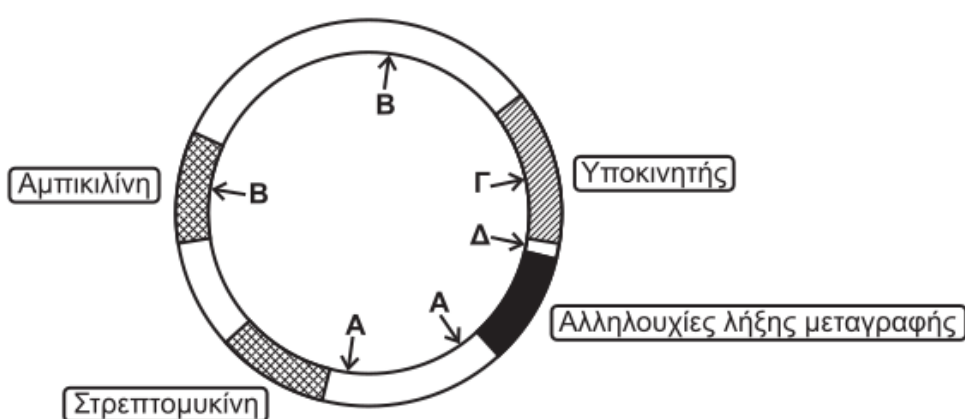
Μονάδες 6

Γ2. Ποια βακτήρια επιζούν, αν στο θρεπτικό υλικό της καλλιέργειας προσθέσουμε το αντιβιοτικό τετρακυκλίνη αντί της αμπικιλίνης (μονάδα 1); Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 5).

Μονάδες 6

ΘΕΜΑ Δ

Στην **Εικόνα 1** δίνεται ένα πλασμίδιο που φέρει γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά αμπικιλίνη και στρεπτομυκίνη, έναν υποκινητή και αλληλουχίες λήξης της μεταγραφής. Στις **θέσεις Α, Β, Γ και Δ** βρίσκονται αλληλουχίες, οι οποίες αναγνωρίζονται από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες **α, β, γ και δ** αντίστοιχα. Το πλασμίδιο αυτό το χρησιμοποιούμε ως φορέα για την κλωνοποίηση ενός ανθρώπινου συνεχούς γονιδίου με σκοπό να παράγουμε ένα ολιγοπεπτίδιο σε καλλιέργειες *in vitro*. Στα βακτήρια που θα χρησιμοποιηθούν για τον μετασχηματισμό περιέχονται όλοι οι μεταγραφικοί παράγοντες που απαιτούνται για τη μεταγραφή και δεν περιέχονται πλασμίδια.

**Εικόνα 1**

- Δ1.** Ποια από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες **α, β, γ** ή **δ** είναι η κατάλληλη για τη χρήση του πλασμιδίου αυτού ως φορέα κλωνοποίησης; (μονάδα 1)
Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας. (μονάδες 3)

Μονάδες 4

- Δ2.** Με ποιον τρόπο μπορούμε να επιλέξουμε τους βακτηριακούς κλώνους που έχουν προσλάβει πλασμίδιο (ανασυνδυασμένο ή μη) από τους κλώνους που δεν έχουν προσλάβει πλασμίδιο; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

Μονάδες 3

Στην **Εικόνα 2** δίνεται τμήμα DNA το οποίο περιέχει το συνεχές ανθρώπινο γονίδιο που επιθυμούμε να εισαγάγουμε στο πλασμίδιο της **Εικόνας 1**.

Αλυσίδα I **OH-GCCAATATTAAATGAGCATGCCGTAGGAATATTTCGG**
Αλυσίδα II **CGGTTATAATTCTACTCGTACGGCATCCTTATAAGCC**

Εικόνα 2

- Δ3.** Να εντοπίσετε την κωδική αλυσίδα του γονιδίου της **Εικόνας 2**. (μονάδα 1)
Να γράψετε το mRNA και να σημειώσετε τον προσανατολισμό του.
(μονάδες 2) Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας. (μονάδες 4)

Μονάδες 7

- Δ4.** Σύμφωνα με την **Εικόνα 2**, να γράψετε την αλληλουχία μήκους έξι ζευγών βάσεων που αναγνωρίζει η περιοριστική ενδονουκλεάση, την οποία προσδιορίσατε στο ερώτημα Δ1, για την κλωνοποίηση του γονιδίου.

Μονάδες 5

- Δ5.** Να εξηγήσετε γιατί η κλωνοποίηση του γονιδίου της **Εικόνας 2** στο πλασμίδιο της **Εικόνας 1** μπορεί να οδηγήσει

- i) στη δημιουργία βακτηριακών κλώνων που παράγουν το ολιγοπεπτίδιο και
- ii) στη δημιουργία βακτηριακών κλώνων που δεν παράγουν το ολιγοπεπτίδιο παρόλο που περιέχουν το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.

Μονάδες 6

ΘΕΜΑ Δ

Παρακάτω σας δίνονται τέσσερις μονόκλωνες αλυσίδες DNA:

1. 5' - **AAATGAAACCAGGATAAG** - 3'
2. 5' - **AATTCGGGGGGGC** - 3'
3. 5' - **AATTCTTATCCTGGTTTCATTT** - 3'
4. 5' - **AATTGCCCCCCG** - 3'

Οι αλυσίδες αυτές τοποθετούνται σε κατάλληλο περιβάλλον υβριδοποίησης.

- Δ1.** Να γράψετε τα μόρια DNA που θα προκύψουν μετά την υβριδοποίηση, τα οποία θα ονομάσετε *υβριδοποιημένο μόριο 1* και *υβριδοποιημένο μόριο 2*.

Μονάδες 2

- Δ2.** Στο ένα από τα δύο υβριδοποιημένα μόρια DNA που θα προκύψουν εμπεριέχεται γονίδιο, το οποίο κωδικοποιεί ένα ολιγοπεπτίδιο. Να γράψετε το mRNA που θα προκύψει (μονάδα 1) και να αιτιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 2).

Μονάδες 3

- Δ3.** Το πεπτίδιο που προκύπτει από τη μετάφραση του παραπάνω mRNA είναι:

H₂N – Μεθειονίνη – Λυσίνη – Προλίνη – Γλυκίνη – COOH

Ποιο είναι το αντικωδικόνιο του tRNA που θα τοποθετηθεί στο ριβόσωμα μετά την αποσύνδεση του tRNA, το οποίο μεταφέρει το αμινοξύ λυσίνη (μονάδες 2); Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 6).

Μονάδες 8

- Δ4.** Στα υβριδοποιημένα μόρια 1 και 2 προστίθεται το ένζυμο DNA δεσμάση. Να γράψετε τα πιθανά ανασυνδυασμένα μόρια DNA που θα προκύψουν από την δράση της DNA δεσμάσης, σημειώνοντας τους προσανατολισμούς των αλυσίδων (μονάδες 4) και αιτιολογώντας την απάντησή σας (μονάδες 4). Εάν στη συνέχεια προστεθεί η περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI, να εξηγήσετε πόσα τμήματα DNA θα προκύψουν (μονάδες 4).

Μονάδες 12



