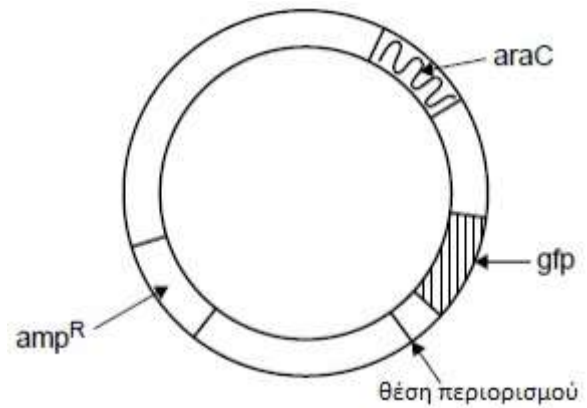


Για την κλωνοποίηση ενός γονιδίου X τα βήματα που ακολουθούνται είναι τα εξής: 1. Το πλασμίδιο που εικονίζεται παρακάτω κόβεται από μία συγκεκριμένη περιοριστική ενδονουκlease. 2. Το γονίδιο X εισάγεται στο πλασμίδιο. 3. Τα πλασμίδια μετασχηματίζουν βακτήρια. 4. Τα βακτήρια αναπτύσσονται σε τρυβλία με θρεπτικό υλικό με άγαρ και συστατικά όπως φαίνονται στον πίνακα. Αυτό το πλασμίδιο περιέχει θέση στην οποία κόβει η περιοριστική ενδονουκlease και τα παρακάτω τρία γονίδια: • *amp^R* – προσδίδει ανθεκτικότητα στο αντιβιοτικό αμπικιλίνη. • *gfp* – κωδικοποιεί την πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (GFP), η οποία φθορίζει σε υπεριώδη ακτινοβολία. • *araC* – κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που απαιτείται για να προκαλέσει την έκφραση του *gfp* όταν είναι παρούσα η αραβινόζη. Στον παρακάτω πίνακα απεικονίζονται τα αποτελέσματα του πειράματος του βακτηριακού μετασχηματισμού.



1. Τα βακτήρια χρησιμοποιούνται στη κλωνοποίηση του γονιδίου X διότι Α. περιέχουν περιοριστικές ενδονουκλεάσες που κόβουν τυχαία χρωμοσώματα σε θραύσματα ποικίλων μεγεθών. Β. προσφέρουν το αναγκαίο κυτταρικό περιβάλλον για τον

Τρυβλίο	I	II	III	IV
Εικόνα τρυβλίου				
Θρεπτικό υλικό	Μόνο άγαρ	Άγαρ, στρεπτομυκίνη και αραβινόζη	Άγαρ, αμπικιλίνη και αραβινόζη	Άγαρ και αμπικιλίνη
Περιγραφή αποτελέσματος	Όλη η επιφάνεια με βακτήρια		Παρούσες αποικίες βακτηρίων	Παρούσες αποικίες βακτηρίων

πολλαπλασιασμό του φορέα κλωνοποίησης. Γ. περιέχουν κυτταρικό τοίχωμα που τα καθιστά ανθεκτικά. Δ. εκφράζουν μόνο τα ξένα γονίδια.

2. Ποιο τρυβλίο θα περιέχει βακτήρια που φθορίζουν σε υπεριώδη ακτινοβολία; Α. τρυβλίο I Β. τρυβλίο II Γ. τρυβλίο III Δ. τρυβλίο IV .

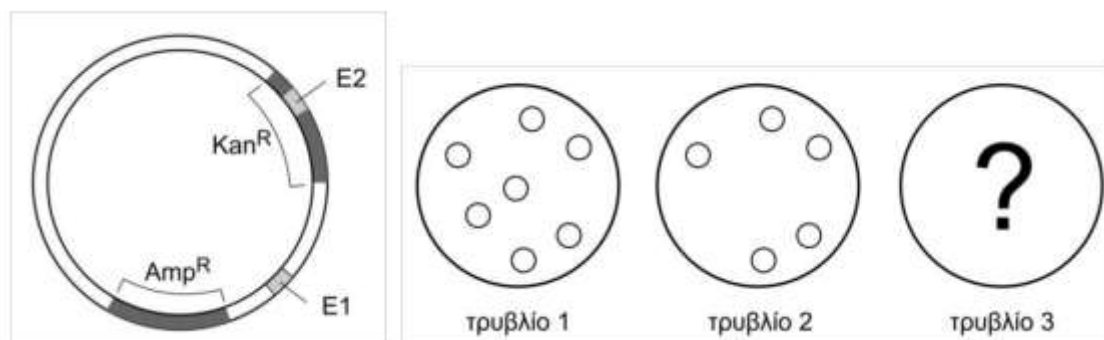
3. Σύμφωνα με την εικόνα στο τρυβλίο I αναπτύσσονται: Α. Μόνο μετασχηματισμένα βακτήρια. Β. Μόνο μετασχηματισμένα βακτήρια με μη ανασυνδυασμένα πλασμίδια. Γ. Μόνο μετασχηματισμένα βακτήρια με ανασυνδυασμένα πλασμίδια. Δ. Βακτήρια μετασχηματισμένα και μη μετασχηματισμένα.

4. Στο τρυβλίο II: Α. Αναπτύσσονται βακτήρια που φέρουν πλασμίδια. Β. Αναπτύσσονται βακτήρια που φέρουν ανασυνδυασμένα πλασμίδια. Γ. Αναπτύσσονται βακτήρια που φέρουν ανασυνδυασμένα πλασμίδια που φθορίζουν σε υπεριώδη ακτινοβολία. Δ. Δεν αναπτύσσονται βακτήρια.

5. Ποιο από τα παρακάτω δίκλιωνα μόρια DNA, Α. 5' AAGGAATATGCCCAAATTTGGGTGATAAAAGG 3' 3' TTCCTTATACGGGTTTAAACCCACTATTTTCC 5' Β. 5' AGTCAATATGCCCAAATTTGGGTGATAAAGTC 3' 3' TCAGTTATACGGGTTTAAACCCACTATTTTCAG 5' Γ. 5' GGCCAATATGCCCAAATTTGGGTGATAAGGCC 3' 3' CCGGTTATACGGGTTTAAACCCACTATTTCCGG 5' Δ. 5' ACCAAATATGCCCAAATTTGGGTGATAAACCA 3' 3' TGGTTTATACGGGTTTAAACCCACTATTTGGT 5'

Για την κατευθυνόμενη κλωνοποίηση του γονιδίου X σε πλασμίδιο, χρησιμοποιούνται δύο περιοριστικές ενδονουκλεάσες, E1 και E2. Το πλασμίδιο περιέχει δύο γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά αμπικιλίνη (*Amp^R*) και καναμυκίνη (*Kan^R*). Τα μετασχηματισμένα βακτήρια

αναπτύσσονται σε τρία τρυβλία, 1, 2, και 3. Το τρυβλίο 1 περιέχει θρεπτικό υλικό και αμπικιλίνη, το τρυβλίο 2 περιέχει θρεπτικό υλικό, αμπικιλίνη και καναμυκίνη, ενώ το τρυβλίο 3 περιέχει θρεπτικό υλικό και καναμυκίνη.



6. Βακτηριακές αποικίες με ανασυνδυασμένα πλασμίδια θα υπάρχουν: Α. μόνο στο τρυβλίο 1 Β. μόνο στο τρυβλίο 2 Γ. στα τρυβλία 1 και 2 Δ. σε κανένα από τα τρυβλία 1 και 2
7. Στο τρυβλίο 3 περιμένουμε να αναπτυχθούν: Α. όλες οι αρχικές αποικίες Β. μόνο οι αποικίες με τα μετασχηματισμένα βακτήρια με ανασυνδυασμένο πλασμίδιο Γ. μόνο οι αποικίες με τα μετασχηματισμένα βακτήρια με μη ανασυνδυασμένο πλασμίδιο Δ. καμία αποικία
8. Στο ίδιο βακτήριο εισάγονται ταυτόχρονα δύο ανασυνδυασμένα πλασμίδια: το πλασμίδιο Α και το πλασμίδιο Β. Στο πλασμίδιο Α έχει εισαχθεί το ευκαρυωτικό γονίδιο α, μαζί με τον υποκινητή του, σε θέση που βρίσκεται μακριά από υποκινητές γονιδίων του πλασμιδίου. Το πλασμίδιο Β φέρει το ευκαρυωτικό γονίδιο β, χωρίς υποκινητή, το οποίο όμως έχει εισαχθεί δίπλα στον υποκινητή ενός γονιδίου του πλασμιδίου. Θεωρώντας ότι τα γονίδια αποτελούνται μόνο από εξώνια, ποια από τις προτάσεις που ακολουθούν είναι η σωστή: Α. στο βακτήριο θα παραχθούν και οι δύο πρωτεΐνες. Β. στο βακτήριο θα παραχθεί μόνο η πρωτεΐνη α. Γ. στο βακτήριο θα παραχθεί μόνο η πρωτεΐνη β. Δ. δεν θα παραχθεί καμία από τις δύο πρωτεΐνες.
9. Να αιτιολογήσετε την επιλογή που κάνατε.

Απομονώσαμε το χρωμόσωμα 1 από έναν ανθρώπινο γαμέτη και βρήκαμε ότι υπάρχουν 30 θέσεις αναγνώρισης για την περιοριστική ενδονουκλεάση X. Πόσα διαφορετικού μήκους θραύσματα θα προκύψουν μετά την επίδραση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης X στο ίδιο χρωμόσωμα που απομονώσαμε από ένα φυσιολογικό κύτταρο που βρίσκεται...

10. ...στη μετάφαση της μίτωσης; Α. 30 Β. 31 Γ. 60 Δ. 62
11. ...στην ανάφαση I; Α. 31 Β. περισσότερα από 31 Γ. λιγότερα από 31 Δ. όλα τα παραπάνω είναι πιθανά
12. Έχουμε στη διάθεση μας την κωδική αλυσίδα ενός γονιδίου Α, τη μη κωδική αλυσίδα του ίδιου γονιδίου, το πρόδρομο mRNA του γονιδίου Α, το ώριμο mRNA του γονιδίου Α και το cDNA του. Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται το αποτέλεσμα της υβριδοποίησης δύο μονόκλωνων αλυσίδων.



Αν τα παρακάτω ζευγάρια αλυσίδων μπορούν να αντιστοιχούν στην παραπάνω υβριδοποίηση να σημειώσετε Σ (σωστή αντιστοίχιση) ή Λ (λανθασμένη αντιστοίχιση).

- Α. I: κωδική αλυσίδα ενός γονιδίου και II: μη κωδική αλυσίδα του ίδιου γονιδίου.
 Β. I: κωδική αλυσίδα ενός γονιδίου και II: πρόδρομο mRNA του ίδιου γονιδίου.
 Γ. I: κωδική αλυσίδα ενός γονιδίου και II: ώριμο mRNA του ίδιου γονιδίου.
 Δ. I: κωδική αλυσίδα ενός γονιδίου και II: cDNA αλυσίδα του ίδιου γονιδίου.
 Ε. I: μη κωδική αλυσίδα ενός γονιδίου και II: πρόδρομο mRNA του ίδιου γονιδίου.
 ΣΤ. I: μη κωδική αλυσίδα ενός γονιδίου και II: ώριμο mRNA του ίδιου γονιδίου.
 Ζ. I: μη κωδική αλυσίδα ενός γονιδίου και II: cDNA αλυσίδα του ίδιου γονιδίου.
 Η. I: πρόδρομο mRNA ενός γονιδίου και II: ώριμο mRNA του ίδιου γονιδίου.

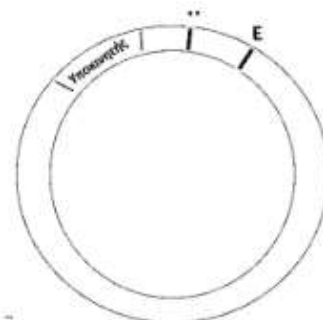
Θ. I: πρόδρομο mRNA ενός γονιδίου και II: cDNA αλυσίδα του ίδιου γονιδίου.

I. I: ώριμο mRNA ενός γονιδίου και II: cDNA αλυσίδα του ίδιου γονιδίου.

13. Ένας πλασμιδιακός φορέας κλωνοποίησης χρησιμοποιείται για τη μεταφορά ενός γραμμικού δίκλωνου τμήματος DNA σε βακτηριακά κύτταρα. Οι θέσεις αναγνώρισης δύο περιοριστικών ενδονουκλεασών, των HindIII και EcoRI, φαίνονται στην εικόνα με τα αναγνωριστικά H και E αντίστοιχα. Η HindIII αναγνωρίζει την αλληλουχία: 5' -AAGCTT-3'

3' -TTCGAA- 5' και σπάει τους φωσφοδιεστερικούς δεσμούς ανάμεσα στα νουκλεοτίδια με αζωτούχο βάση την Αδενίνη και στους δύο κλώνους. Το πλασμίδιο ανασυνδυάζεται αφού σε αυτό επιδράσουν και οι δύο περιοριστικές ενδονουκλεάσες. Το δίκλωνο DNA που θα μπορούσε να εκφραστεί με επιτυχία στα βακτήρια μετά τη μεταφορά του με φορέα το συγκεκριμένο πλασμίδιο είναι το:

A.	κωδική μη κωδική	5' AGCTTACCAT.....TTGCCCTG 3' 3' ATGGTA.....AACGGGACTTAA 5'
B.	κωδική μη κωδική	3' AGCTTACCAT.....TTGCCCTG 5' 5' ATGGTA.....AACGGGACTTAA 3'
Γ.	μη κωδική κωδική	3' AGCTTACCAT.....TTGCCCTG 5' 5' ATGGTA.....AACGGGACTTAA 3'
Δ.	μη κωδική κωδική	5' AGCTTACCAT.....TTGCCCTG 3' 3' ATGGTA.....AACGGGACTTAA 5'



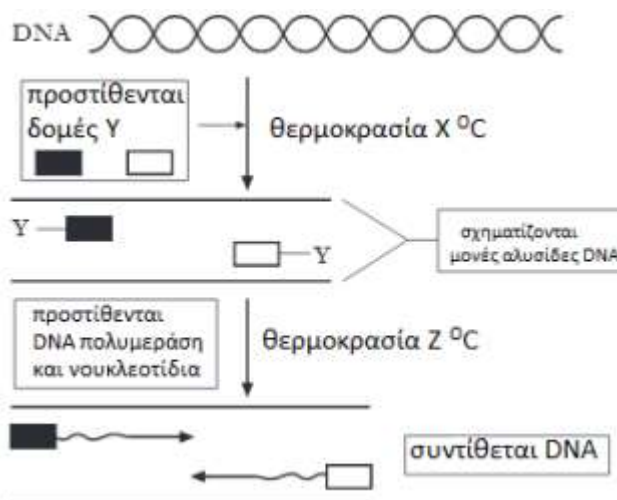
14. Αμέσως μετά τη δράση της αντίστροφης μεταγραφάσης το cDNA του γονιδίου της β-αλυσίδας της HbA μπορεί να υβριδοποιήσει: A. τμήματα της κωδικής αλυσίδας του αντίστοιχου γονιδίου. B. τμήματα της μεταγραφόμενης αλυσίδας του αντίστοιχου γονιδίου. Γ. το πρόδρομο mRNA σε όλο το μήκος του. Δ. αποκλειστικά και μόνο την αλληλουχία των κωδικονίων του ώριμου Mrna.

15. Η γονιδιωματική βιβλιοθήκη ενός μυϊκού κυττάρου περιλαμβάνει 5000 κλώνους ενώ η γονιδιωματική βιβλιοθήκη ενός παγκρεατικού κυττάρου περιλαμβάνει 15000 κλώνους. Η διαφορά αυτή οφείλεται: A. σε περισσότερες αλληλουχίες αναγνώρισης στο παγκρεατικό κύτταρο. B. στη δράση διαφορετικών περιοριστικών ενζύμων στα μυϊκά και παγκρεατικά κύτταρα. Γ. στη διαφορετική ποσότητα DNA στις δύο αυτές κατηγορίες κυττάρων. Δ. στο ότι στα δύο κύτταρα εκφράζονται διαφορετικά γονίδια.

16. Κατά τη διαδικασία της υβριδοποίησης δημιουργείται ένα δίκλωνο τμήμα DNA-RNA, στο οποίο η εκατοστιαία αναλογία αδενίνης είναι 44% και θυμίνης είναι 24%. Η εκατοστιαία αναλογία ουρακίλης στην αλυσίδα του RNA είναι: A. 40% B. 20% Γ. 10% Δ. 5%

17. Το παρακάτω σχήμα απεικονίζει σε συντομία τα στάδια της PCR. Ποια γραμμή στον πίνακα απεικονίζει σωστά τη θερμοκρασία X και τη δομή Y;

	Θερμοκρασία X σε (°C)	Δομή Y
A	55	Ανιχνευτής
B	95	Πρωταρχικά τμήματα
Γ	55	Πρωταρχικά τμήματα
Δ	95	Ανιχνευτής



18. Για να πολλαπλασιάσετε το τμήμα DNA που βρίσκεται στο πλαίσιο του μορίου της εικόνας με τη βοήθεια της τεχνικής PCR προμηθεύστε τα

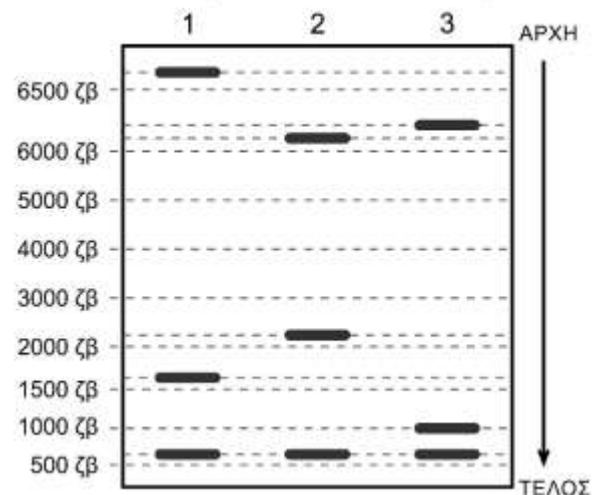
δύο πρωταρχικά τμήματα του πίνακα. Ποια από τις παρακάτω προτάσεις περιγράφει σωστά το αποτέλεσμα της προσπάθειάς σας;

ΠΡΩΤΑΡΧΙΚΑ ΤΜΗΜΑΤΑ	
1.	5' - ΑΤΑΓΑC - 3'
2.	5' - ΑCΤΤΑC - 3'

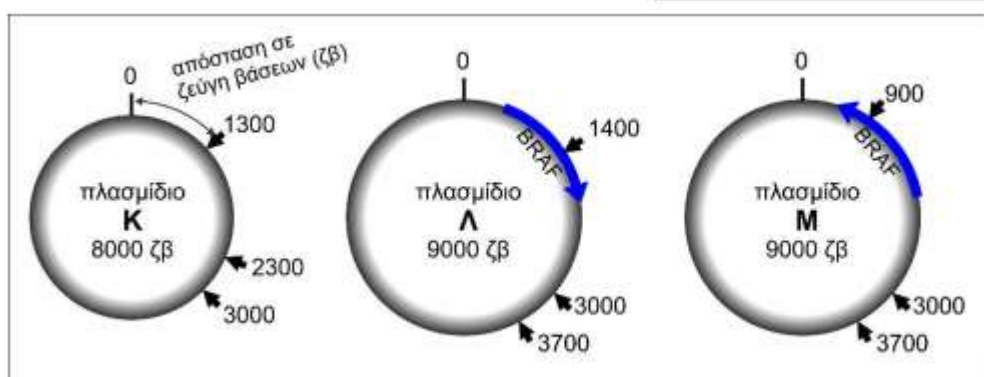
5' - ACGACCGATAGACGACGTAGGACTTACTTACTTACGTAGGCA - 3'
 3' - TGCTGGCTATCTGCTGCATCCTGAATGAATGAATGCATCCGT - 5'

Α. Η PCR θα εξελιχθεί ομαλά αφού και τα δύο πρωταρχικά τμήματα βρίσκουν συμπληρωματικές και αντιπαράλληλες αλληλουχίες. Β. Η PCR δεν θα προχωρήσει γιατί και τα δύο πρωταρχικά τμήματα έχουν συμπληρωματικές και αντιπαράλληλες αλληλουχίες στην ίδια αλυσίδα. Γ. Η PCR δεν θα προχωρήσει γιατί το πρωταρχικό τμήμα 2 επεκτείνεται έξω από το πλαίσιο. Δ. Η PCR θα προχωρήσει αφού και τα δύο πρωταρχικά τμήματα έχουν τον ίδιο προσανατολισμό.

19. Έχουμε ενσωματώσει το γονίδιο BRAF σε πλασμίδιο και πρέπει να ελέγξουμε αν το γονίδιο τοποθετήθηκε σωστά. Για τον σκοπό αυτό επιδρούμε με κατάλληλες περιοριστικές ενδονουκλεάσες οι οποίες τεμαχίζουν το πλασμίδιο σε μικρότερα ευθύγραμμα τμήματα (θραύσματα). Στη συνέχεια τα θραύσματα αυτά υποβάλλονται σε ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αгарόζης. Η εικόνα 2 παρουσιάζει το αρχικό πλασμίδιο Κ (8000 ζβ) και τα τροποποιημένα πλασμίδια Λ και Μ (9000 ζβ το καθένα) με το γονίδιο BRAF τοποθετημένο με διαφορετικές κατευθύνσεις. Με μικρά βέλη σημειώνονται οι θέσεις στις οποίες επιδρούν οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες και η απόστασή τους από τη θέση 0. Η εικόνα 1 παρουσιάζει τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης για τα θραύσματα DNA. Στη διαδικασία της ηλεκτροφόρησης σε πήκτωμα υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου, τα μικρότερα τμήματα DNA διανύουν μεγαλύτερες αποστάσεις λόγω μικρότερου μοριακού βάρους. Ποιο πλασμίδιο βρίσκεται σε κάθε διάδρομο του πηκτώματος της ηλεκτροφόρησης.



Εικόνα 1



Εικόνα 2

- Α. 1-Κ, 2-Λ, 3-Μ Β. 1-Λ, 2-Μ, 3-Κ Γ. 1-Μ, 2-Κ, 3-Λ Δ. 1-Λ, 2-Κ, 3-Μ