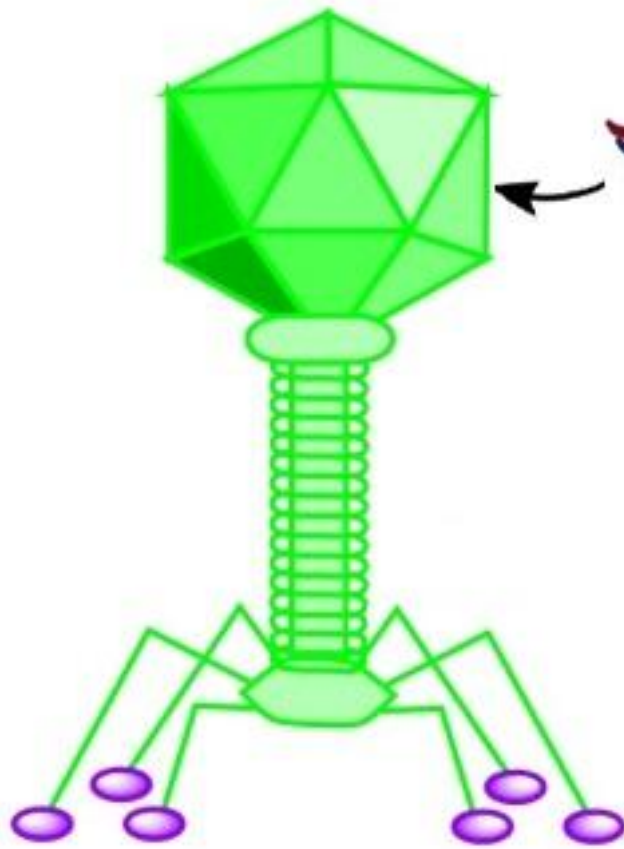


Τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA



ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ

4ο κεφάλαιο

Περιεχόμενα

	από σελίδα
• Ερωτήσεις κλειστού τύπου – Επανάληψη:	265
→ πολλαπλής επιλογής, σωστού - λάθους, αντιστοίχισης, ταξινόμησης	
• Ερωτήσεις ανοικτού τύπου – Επανάληψη:	281
→ ανάκλησης, κρίσης - συνδυασμού - σύγκρισης	
• Ασκήσεις - προβλήματα – Επανάληψη	285

Σύμβολα για τη διαχείριση των ερωτήσεων-ασκήσεων:

- 👁 Διαβάζεις προσεκτικά, για να κατανοήσεις τα δεδομένα και τα ζητούμενα.
ΔΕΝ απαντάς γραπτά!!!
- 📖 Απαντάς **ΣΥΝΤΟΜΑ!!!** επάνω στο ΒΙΒΛΙΟ
- 📍 Απαντάς **ΥΠΟΔΕΙΓΜΑΤΙΚΑ!!!** στο ΤΕΤΡΑΔΙΟ
- 💣 **ΠΡΟΣΟΧΗ ΑΠΑΙΤΗΤΙΚΗ!!!**

Επανάληψη: ερωτήσεις – ασκήσεις

A. ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΚΛΕΙΣΤΟΥ ΤΥΠΟΥ

✚ Να βάλετε σε κύκλο το γράμμα που αντιστοιχεί στη σωστή απάντηση ή στη φράση που συμπληρώνει σωστά την πρόταση:

1. Ο φυσιολογικός ρόλος των περιοριστικών ενδονουκλεασών είναι να:
 - α. απομακρύνουν εσώνια από το πρόδρομο mRNA.
 - β. προστατεύουν τα βακτήρια από την εισβολή «ξένου» DNA.
 - γ. απομακρύνουν εξώνια από το πρόδρομο mRNA.
 - δ. περιορίσουν τη δράση των βακτηρίων.
2. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες:
 - α. παράγονται από βακτήρια.
 - β. αναγνωρίζουν ειδικές αλληλουχίες δίκλωνου DNA.
 - γ. συντίθενται στα ριβοσώματα.
 - δ. όλα τα παραπάνω.
3. Για τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες ισχύει ότι:
 - α. παράγονται στα ευκαρυωτικά κύτταρα.
 - β. κόβουν την κάθε αλυσίδα του DNA σε ίσα μέρη.
 - γ. καταλύουν τη διάσπαση φωσφοδιεστερικών δεσμών.
 - δ. ανήκουν στα μόρια φορέων κλωνοποίησης.
4. ΠΕ '08
Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες:
 - α. είναι απαραίτητες για την έναρξη της μεταγραφής.
 - β. κόβουν τις πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες του RNA σε ειδικές θέσεις.
 - γ. περιορίζουν τη μεταγραφή του DNA.
 - δ. κόβουν το DNA σε ειδικές θέσεις.

5. Η περιοριστική ενδονουκλεάση BamHI αναγνωρίζει την αλληλουχία:

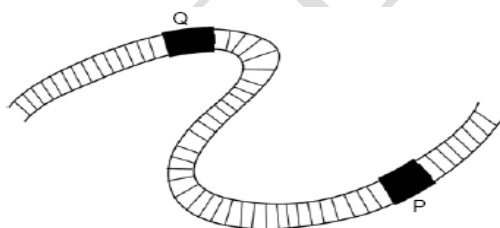
- α. 5' -GGATCC-3'
3' -CCTAGG-5'
- β. 5' -CCCTATAGGG-3'
3' -GGGATATCCC-5'
- γ. 5' -GAUAUC-3'
3' -CUAUAG-5'
- δ. 5' -GAC-3'
3' -CTG-5'

6. ΠΔΒ Β '16

Ποιο από τα παρακάτω δίκλινα μόρια DNA, που περιέχει μικρό γονίδιο, αφού κοπεί με κατάλληλο περιοριστικό ένζυμο μπορεί να αποτελέσει μέρος γονιδιωματικής βιβλιοθήκης;

- α. 5' AAGGAATATGCCCAAATTTGGGTGATAAAAGG 3'
3' TTCCTTATACGGGTTTAAACCCACTATTTTCC 5'
- β. 5' AGTCAATATGCCCAAATTTGGGTGATAAAGTC 3'
3' TCAGTTATACGGGTTTAAACCCACTATTTTCAG 5'
- γ. 5' GGCCAATATGCCCAAATTTGGGTGATAAGGCC 3'
3' CCGGTTATACGGGTTTAAACCCACTATTCCGG 5'
- δ. 5' ACCAAATATGCCCAAATTTGGGTGATAAACCA 3'
3' TGGTTTATACGGGTTTAAACCCACTATTTGGT 5'

7. Το γονιδίωμα ενός μικρού ιού απεικονίζεται παρακάτω, παρουσιάζοντας τις θέσεις κοπής για δύο περιοριστικές ενδονουκλεάσες (P και Q). Χρησιμοποιώντας τα ένζυμα αυτά παρατηρήθηκαν θραύσματα DNA, των οποίων το μήκος φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί.



Θέση κοπής	Περιοριστική ενδονουκλεάση	Μήκος παρατηρούμενου θραύσματος DNA (Kb)
Q	EcoRI	3 Kb και 7 Kb
P	BamHI	8 Kb και 2 Kb

Στην περίπτωση που χρησιμοποιηθούν και οι δύο περιοριστικές ενδονουκλεάσες ταυτόχρονα, τα θραύσματα που προκύπτουν DNA θα έχουν μήκη:

- α. 3 Kb, 8 Kb, 5 Kb, 2 Kb
- β. 7 Kb, 2 Kb, 1 Kb
- γ. 3 Kb, 5 Kb, 2 Kb
- δ. 3 Kb, 7 Kb, 8 Kb, 2 Kb

13. ΠΕ '10

Η εισαγωγή ανασυνδυασμένου DNA σε βακτηριακό κύτταρο – ξενιστή ονομάζεται:

- | | |
|-----------------|---------------------|
| α. ιχνηθέτηση. | β. μετασχηματισμός. |
| γ. εμβολιασμός. | δ. μικροέγχυση. |

14. Ας υποθέσουμε ότι προσπαθείτε να εισάγετε ένα γονίδιο σε ένα πλασμίδιο. Σας δίνεται ένα τμήμα DNA στο οποίο περιέχεται ένα γονίδιο. Το τμήμα DNA έχει κοπεί με την περιοριστική ενδονουκλεάση X. Το γονίδιο που θέλετε να εισάγετε έχει θέσεις και στα δύο άκρα, που μπορούν να κοπούν από την περιοριστική ενδονουκλεάση Y. Έχετε ένα πλασμίδιο με μία μοναδική θέση για το Y, αλλά όχι για το X.

Η στρατηγική σας θα πρέπει να είναι:

- α. να τοποθετήσετε τα θραύσματα που έχουν κοπεί με την περιοριστική ενδονουκλεάση X απευθείας στο πλασμίδιο χωρίς να κόψετε το πλασμίδιο.
- β. κόβετε το πλασμίδιο με την περιοριστική ενδονουκλεάση X και τοποθετείτε τα θραύσματα που έχετε κόψει με την περιοριστική ενδονουκλεάση X μέσα στο πλασμίδιο.
- γ. κόβετε το DNA με την περιοριστική ενδονουκλεάση Y και τοποθετείτε αυτά τα θραύσματα μέσα στο πλασμίδιο που έχετε κόψει με το ίδιο ένζυμο.
- δ. κόβετε το πλασμίδιο δύο φορές με την περιοριστική ενδονουκλεάση Y και συνδέετε τα δύο θραύσματα στα άκρα των θραυσμάτων του DNA που έχετε κόψει με την περιοριστική ενδονουκλεάση X.

15. ΠΔΒ Β '17

Για να γίνει κλωνοποίηση ενός γονιδίου χρησιμοποιήθηκαν:

- περιοριστική ενδονουκλεάση A για τον τεμαχισμό του DNA,
- περιοριστική ενδονουκλεάση B για τον τεμαχισμό του πλασμιδιακού DNA,
- DNA δεσμάση και άλλα αντιδραστήρια που ευνοούν το σχηματισμό ανασυνδυασμένων πλασμιδίων.

Παρόλα αυτά η διαδικασία **δεν** οδήγησε σε επιτυχή δημιουργία ενός ανασυνδυασμένου μορίου DNA διότι:

- α. οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες A και B αναγνωρίζουν διαφορετικές αλληλουχίες.
- β. οι δύο περιοριστικές ενδονουκλεάσες δεν δημιουργούν συμπληρωματικά μονόκλωνα άκρα.
- γ. η DNA δεσμάση δεν επέτρεψε τη δημιουργία δεσμών Η μεταξύ των συμπληρωματικών μονόκλωνων άκρων.
- δ. δεν είχαν προστεθεί παράγοντες αποδιάταξης για το πλασμίδιο και το DNA.

16. Για τη δημιουργία του ανασυνδυασμένου DNA **δεν** χρειάζεται:

- α. περιοριστική ένδονουκλεάση.
- β. DNA δεσμάση.
- γ. πλασμίδιο ή βακτηριοφάγος λ.
- δ. DNA πολυμεράση.

17. Κλώνος είναι:

- α. το σύνολο των βακτηρίων που έχουν ανασυνδυασμένο DNA.
 - β. το σύνολο των βακτηρίων που είναι ανθεκτικά σε ένα αντιβιοτικό.
 - γ. το σύνολο των ίδιων πλασμιδίων που φέρουν το ίδιο τμήμα DNA.
 - δ. τίποτε από τα παραπάνω.
-

18. Η γονιδιωματική βιβλιοθήκη είναι:

- α. το σύνολο των βακτηριακών κλώνων που περιέχει το ώριμο mRNA ενός ιστού.
- β. το σύνολο των βακτηριακών κλώνων που περιέχει το συνολικό DNA του δότη.
- γ. το συνολικό DNA του δότη.
- δ. το συνολικό DNA του δότη ενσωματωμένο σε φορέα κλωνοποίησης.

19. ΠΕ '03

Μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη περιέχει:

- α. το σύνολο του mRNA ενός οργανισμού.
- β. το σύνολο του DNA ενός οργανισμού.
- γ. αντίγραφα ενός μόνο ανασυνδυασμένου πλασμιδίου.
- δ. αντίγραφα ανασυνδυασμένων κυττάρων.

20. ΠΔΒ Α '18

Η γονιδιωματική βιβλιοθήκη ενός μυϊκού κυττάρου περιλαμβάνει 5000 κλώνους, ενώ η γονιδιωματική βιβλιοθήκη ενός παγκρεατικού κυττάρου περιλαμβάνει 15000 κλώνους. Η διαφορά αυτή οφείλεται:

- α. σε περισσότερες αλληλουχίες αναγνώρισης στο παγκρεατικό κύτταρο.
- β. 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.

21. Η γονιδιωματική βιβλιοθήκη ενός οργανισμού περιλαμβάνει:

- α. άθικτα τα χρωμοσώματα ενός οργανισμού.
- β. κομμάτια του DNA του οργανισμού που αντιστοιχούν σε όλο το γονιδίωμά του, μέσα σε κατάλληλο διάλυμα, απουσία κυττάρων.
- γ. αποικίες βακτηρίων που περιέχουν σε ανασυνδυασμένα πλασμίδια όλο το γενετικό υλικό του οργανισμού.
- δ. κύτταρα του οργανισμού από κάθε ιστό του.

22. Κατά το σχηματισμό της γονιδιωματικής βιβλιοθήκης χρησιμοποιούνται τα ένζυμα:

- α. RNA πολυμεράση και DNA δεσμάση.
- β. περιοριστική ενδονουκλεάση και αντίστροφη μεταγραφάση.
- γ. αντίστροφη μεταγραφάση και DNA δεσμάση.
- δ. DNA δεσμάση και περιοριστική ενδονουκλεάση.

23. Το γονίδιο της α αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης Α εκφράζεται στα πρόδρομα ερυθροκύτταρα.

Ο υποκινητής του γονιδίου αυτού μπορεί να περιέχεται:

- α. μόνο στη γονιδιωματική βιβλιοθήκη του ανθρώπου.
- β. μόνο στη cDNA βιβλιοθήκη των πρόδρομων ερυθροκυττάρων.
- γ. και στις δύο βιβλιοθήκες.
- δ. σε καμιά από τις δύο βιβλιοθήκες .

24. Πλασμίδια φέρουν γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό στρεπτομυκίνη και γονίδιο του οποίου το πρωτεϊνικό προϊόν είναι ένζυμο (β-γαλακτοζιδάση), που μετατρέπει μία άχρωμη ουσία (X-gal), που υπάρχει στο θρεπτικό υλικό και την οποία προσλαμβάνει το βακτήριο, σε μπλε. Τα πλασμίδια έχουν την αλληλουχία που κόβει η EcoRI μέσα στο γονίδιο που παράγει το ένζυμο. Μετά τον ανασυνδυασμό των πλασμιδίων με τμήματα DNA και την εισαγωγή τους σε βακτήρια ξενιστές (μετασχηματισμός) πήραμε τρεις πληθυσμούς βακτηρίων. Ποια από τα παρακάτω βακτήρια πρέπει να επιλεγούν με χρήση του αντιβιοτικού στρεπτομυκίνη για να αποτελέσουν μέρος γονιδιωματικής βιβλιοθήκης;

- α. Βακτήρια μη ανθεκτικά στη στρεπτομυκίνη.
- β. Βακτήρια μπλε και ανθεκτικά στη στρεπτομυκίνη.
- γ. Βακτήρια άχρωμα και ανθεκτικά στη στρεπτομυκίνη.
- δ. Κανένα βακτήριο από τα παραπάνω δεν μπορεί να αποτελεί μέρος της γονιδιωματικής βιβλιοθήκης.

25. ΠΔΒ Α '17

Πλασμίδιο που θα χρησιμοποιηθεί ως φορέας κλωνοποίησης διαθέτει γονίδιο ανθεκτικότητας στην πουρομυκίνη, γονίδιο ανθεκτικότητας στην τετρακυκλίνη και γονίδιο ανθεκτικότητας στην στρεπτομυκίνη. Υπάρχουν διαθέσιμες 2 περιοριστικές ενδονουκλεάσες: η EcoRI, της οποίας η αλληλουχία αναγνώρισης εντοπίζεται στο γονίδιο ανθεκτικότητας στην τετρακυκλίνη, και η HindIII, της οποίας η αλληλουχία αναγνώρισης εντοπίζεται σε δύο ξεχωριστά γονίδια του πλασμιδίου που κωδικοποιούν τη σύνθεση πρωτεϊνών που επιτρέπουν την επιβίωση σε υψηλές θερμοκρασίες. Το βακτήριο περιέχει στο κύριο μόριο DNA γονίδιο ανθεκτικότητας στην στρεπτομυκίνη.

i. Για την κλωνοποίηση θα χρησιμοποιήσουμε:

- α. την EcoRI.
- β. τη HindIII.
- γ. είτε την EcoRI είτε τη HindIII.
- δ. ταυτόχρονα την EcoRI και τη HindIII.

ii. Τα μετασχηματισμένα βακτήρια θα μπορούσαν να απομονωθούν από τα μη μετασχηματισμένα με ταυτόχρονη χρήση:

- α. υψηλής θερμοκρασίας και στρεπτομυκίνης.
- β. στρεπτομυκίνης και τετρακυκλίνης.
- γ. στρεπτομυκίνης και πουρομυκίνης.
- δ. υψηλής θερμοκρασίας και τετρακυκλίνης.

26. Για την κατασκευή της cDNA βιβλιοθήκης απομονώνονται:

- α. όλα τα γονίδια ενός κυττάρου.
- β. όλα τα γονίδια ενός οργανισμού.
- γ. μόνο τα επικρατή γονίδια.
- δ. τα mRNA των γονιδίων που εκφράζονται στο συγκεκριμένο ιστό.

27. Οι cDNA βιβλιοθήκες ενός οργανισμού περιέχουν:

- α. τμήματα του δίκλωνου DNA του οργανισμού.
- β. όλα τα μόρια ώριμου mRNA του οργανισμού.
- γ. υβριδικά μόρια cDNA – mRNA.
- δ. δίκλωνο RNA, συμπληρωματικό με το γενετικό υλικό του οργανισμού.

28. Το cDNA που δημιουργείται από το mRNA ενός ευκαρυωτικού κυττάρου:

- α. περιέχει τα εσώνια και τα εξώνια του γονιδίου.
- β. περιέχει μόνο τα εσώνια του γονιδίου.
- γ. περιέχει μόνο τα εξώνια του γονιδίου.
- δ. έχει την ίδια αλληλουχία νουκλεοτιδίων με το mRNA.

29. ΠΕ επαν. '13

Η σύνθεση ενός μορίου cDNA καταλύεται από το ένζυμο:

- α. περιοριστική ενδονουκλεάση.
- β. DNA δεσμάση
- γ. αντίστροφη μεταγραφάση.
- δ. DNA ελικάση.

30. ΠΔΒ Β '16

Η cDNA βιβλιοθήκη ενός κυτταρικού τύπου Α περιέχει, μεταξύ άλλων, κλωνοποιημένες αλληλουχίες:

- α. των 3' και 5' αμετάφραστων περιοχών του mRNA της RNA πολυμεράσης.
- β. των εσωνίων του γονιδίου που εκφράζονται στον κυτταρικό τύπο Α.
- γ. των εξωνίων των γονιδίων που εκφράζονται στον κυτταρικό τύπο Α και Β, όταν οι κυτταρικοί τύποι Α και Β ανήκουν σε διαφορετικό ιστό, αλλά στο ίδιο όργανο.
- δ. το α και γ είναι τα σωστά.

31. Ένα δίκλωνο μόριο DNA, που έχει δημιουργηθεί με τη διαδικασία σχηματισμού μιας cDNA βιβλιοθήκης, διαφέρει από το αντίστοιχο γονίδιο:

- α. στην αλληλουχία των βάσεων.
- β. στον προσανατολισμό των αλυσίδων.
- γ. στο ότι δεν περιέχει το τμήμα του γονιδίου που αντιστοιχεί στις αμετάφραστες περιοχές του mRNA.
- δ. σε όλα τα παραπάνω.

32. Κατά την κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης ο κλώνος που δημιουργείται με καλούπι το mRNA θα έχει αλληλουχία:

- α. όμοια με την κωδική αλυσίδα του γονιδίου από το οποίο μεταγράφεται το mRNA
- β. όμοια με τη μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου από το οποίο μεταγράφεται το mRNA.
- γ. η οποία θα περιέχει όμοιες αλληλουχίες με τη μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου από το οποίο μεταγράφεται το mRNA
- δ. συμπληρωματική με την κωδική αλυσίδα του γονιδίου από το οποίο μεταγράφεται το mRNA αλλά όπου T θα έχει U.

35. Για έναν ευκαρυωτικό πολυκύτταρο οργανισμό μπορούμε να κατασκευάσουμε:

- α. μια γονιδιωματική και μια cDNA βιβλιοθήκη.
- β. μια γονιδιωματική και πολλές cDNA βιβλιοθήκες.
- γ. πολλές γονιδιωματικές και μια cDNA βιβλιοθήκη.
- δ. πολλές γονιδιωματικές και πολλές cDNA βιβλιοθήκες

36. Για έναν προκαρυωτικό οργανισμό μπορούμε να κατασκευάσουμε:

- α. μια γονιδιωματική και μια cDNA βιβλιοθήκη.
- β. μια γονιδιωματική και πολλές cDNA βιβλιοθήκες.
- γ. πολλές γονιδιωματικές και μια cDNA βιβλιοθήκη.
- δ. πολλές γονιδιωματικές και πολλές cDNA βιβλιοθήκες.

37. Η σύνδεση μονόκλωνων συμπληρωματικών αλυσίδων νουκλεϊκών οξέων ονομάζεται:

- α. κλωνοποίηση.
- β. μετασχηματισμός.
- γ. ανασυνδυασμός.
- δ. υβριδοποίηση.

38. Οι ανιχνευτές χρησιμοποιούνται:

- α. στη δημιουργία του ανασυνδυασμένου μορίου DNA.
- β. στην εισαγωγή των ανασυνδυασμένων μορίων DNA σε κύτταρα ξενιστές.
- γ. στην επιλογή των βακτηρίων που έχουν προσλάβει τα ανασυνδυασμένα μόρια DNA.
- δ. στον εντοπισμό ενός βακτηριακού κλώνου από κάποια βιβλιοθήκη.

39. Ποιον από τους παρακάτω ανιχνευτές θα χρησιμοποιήσετε για να βρείτε σε μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη ένα γονίδιο που περιέχει στην κωδική του αλυσίδα την εξής αλληλουχία βάσεων:

5' ...G G A C T C A A G T T T A C A T G C A A C G T A C G G ...3'

- | | |
|------------------------------------|------------------------------------|
| α. 5' ...T C A A C A A T G ...3' | β. 5' ...T T T G A A C T C A ...3' |
| γ. 5' ...U U C A A A U G U A ...3' | δ. 5' ...C G U A C G U U G C ...3' |

40. ΠΔΒ Α '18

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:

- | | | | |
|--------|--------|--------|-------|
| α. 40% | β. 20% | γ. 10% | δ. 5% |
|--------|--------|--------|-------|

41. ПΔΒ Α '19

Ένας RNA ανιχνευτής υβριδοποιεί τη μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου CFTR που προκαλεί την κυστική ίνωση. Από κύτταρα φορέα της κυστικής ίνωσης απομονώθηκε το DNA, αποδιατάχθηκε και προστέθηκε ο ανιχνευτής. Ο αριθμός των υβριδοποιήσεων είναι:

- $\alpha.$ 0 $\beta.$ 1 ή 2 $\gamma.$ 2 ή 3 $\delta.$ 3 ή 4

1. Δίνεται η παρακάτω αλληλουχία DNA:

3' ACCCCTAGGTAACCTTAAGCCGATGAAGTGACCGTATTCCTAGGTTTCTTAAGACG 5'
5' TGGGGATCCATTGAATTCGGCTACTTCACTGGCATAAGGATCCAAAGAATTCTGC 3'

- i. Αν η συγκεκριμένη αλληλουχία επωαστεί με την περιοριστική ενδονουκλεάση BamH1, που αναγνωρίζει την αλληλουχία $5' - \text{G}^{\nabla}\text{G A T C C} - 3'$ και $3' - \text{C C T A G}^{\blacktriangle}\text{G} - 5'$, και κόβει όπως υποδηλώνουν τα σύμβολα « ∇ » και « $\blacktriangle$ », θα πάρουμε:

- α. ένα τμήμα. β. δύο τμήματα.
γ. τρία τμήματα. δ. τέσσερα τμήματα.

- ii. Από την συγκεκριμένη αλληλουχία επιθυμούμε να απομονώσουμε και να κλωνοποιήσουμε το τμήμα 5' ATGCCAGTGAAGTAG 3'.

Μετά από επώαση της συγκεκριμένης αλληλουχίας με EcoRI, καταλληλότερος ανιχνευτής για την ανίχνευση του τμήματος, το οποίο περιέχει τη συγκεκριμένη αλληλουχία, είναι:

- α. 3' TTAAGAAACC 5' β. 3' CTTTGGATCC 5'
γ. 3' CGGTCAC TTC 5' δ. 3' AGGTAAC TTA 5'

2. Η μέθοδος PCR είναι μια τεχνική με την οποία:

- α. πολλαπλασιάζεται ταχύτατα συγκεκριμένο τμήμα DNA στο εργαστήριο.
β. υβριδοποιείται μόριο DNA.
γ. πολλαπλασιάζονται ταχύτατα βακτήρια.
δ. ολοκληρώνεται ο ανασυνδυασμός του DNA.

3. Η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) χρησιμοποιεί:

- | | |
|-----------------------------------|----------------------|
| α. πλασμίδια της <i>E. coli</i> . | β. βακτηριοφάγους λ. |
| γ. περιοριστικές ενδονουκλεάσες. | δ. DNA πολυμεράση. |

4. Για να αντιγραφεί πολλές φορές η παρακάτω γονιδιακή αλληλουχία με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), απαιτείται η χρησιμοποίηση πρωταρχικών τμημάτων DNA (*primers*).

5' – GCGTTGACGGTATCAAAACGTTAT.....TTTACCCTGGTGGGCTGTTCTAATC – 3'

Ποια από τα πρωταρχικά τμήματα θα χρησιμοποιηθούν;

- α. 5'- GCGTTGAC-3' και 5'- TGGGCTGT-3'
- β. 5'- CGCAACTG-3' και 5'- TGGGCTGT-3'
- γ. 5'- GCGTTGAC-3' και 5'- GATTAGAA-3'
- δ. 5'- TGATACCG-3' και 5'- GATTAGAA-3'

5. ΠΔΒ Β '18

Η τεχνική της PCR εφαρμόζεται για τον πολλαπλασιασμό τμημάτων DNA *in vitro* πάρα πολλές φορές. Για την εφαρμογή της τεχνικής απαιτούνται μικρά πρωταρχικά τμήματα 5 νουκλεοτιδίων το καθένα.

5' ...CAATGGATCTTCAATGCGCATGG ... 3'
3' ...GTTACCTAGAAGTTACGCGTAGC ... 5'

Για τον πολλαπλασιασμό του παραπάνω τμήματος DNA είναι απαραίτητο να προσθέσουμε στη συσκευή της PCR:

- α. ένα είδος πρωταρχικών τμημάτων.
- β. δύο διαφορετικά είδη πρωταρχικών τμημάτων.
- γ. τρία διαφορετικά είδη πρωταρχικών τμημάτων.
- δ. τέσσερα διαφορετικά είδη πρωταρχικών τμημάτων.

6. ΠΔΒ Α '20

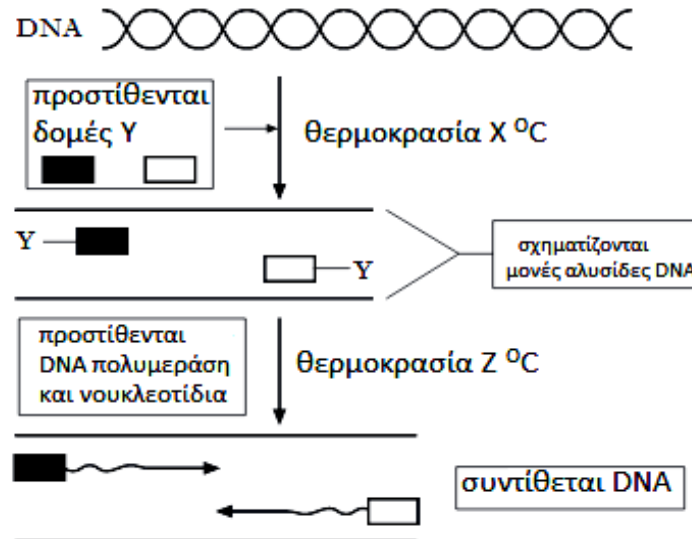
Μια περιοριστική ενδονουκλεάση αναγνωρίζει φυσιολογικά μια αλληλουχία στο 5ο εξώνιο ενός γονιδίου, το οποίο στη μεταλλαγμένη του μορφή οδηγεί σε μια μορφή της νόσου Parkinson. Το εξώνιο έχει μήκος 300 ζεύγη βάσεων και η αλληλουχία που μεταλλάσσεται βρίσκεται περίπου 100 ζεύγη βάσεων από το δεξιό εκκινητή αντίδρασης PCR (εκκινητές είναι τα τμήματα DNA που χρησιμοποιούνται για τον πολλαπλασιασμό αλληλουχιών DNA, με PCR).

Αν εφαρμόσετε PCR για το 5ο εξώνιο και στη συνέχεια κόψετε με την περιοριστική ενδονουκλεάση, τι τμήματα περιμένετε να προκύψουν σε ένα ετερόζυγο άτομο;

- α. Ένα τμήμα μεγέθους 300 ζευγών βάσεων.
- β. Δύο τμήματα 200 και 100 ζευγών βάσεων το καθένα.
- γ. Τρία τμήματα 300, 200 και 100 ζευγών βάσεων το καθένα.
- δ. Τέσσερα τμήματα 300, 200, 150 και 100 ζευγών βάσεων το καθένα.

7. ΠΔΒ Β '18

Το παρακάτω σχήμα απεικονίζει σε συντομία τα στάδια της PCR.



Ποια επιλογή (α, β, γ, δ) αντιστοιχεί σωστά στη θερμοκρασία X και στη δομή Y;

	Θερμοκρασία X σε ($^{\circ}\text{C}$)	Δομή Y
α.	55	Ανιχνευτής
β.	95	Πρωταρχικά τμήματα
γ.	55	Πρωταρχικά τμήματα
δ.	95	Ανιχνευτής

8. ΠΔΒ Α '20

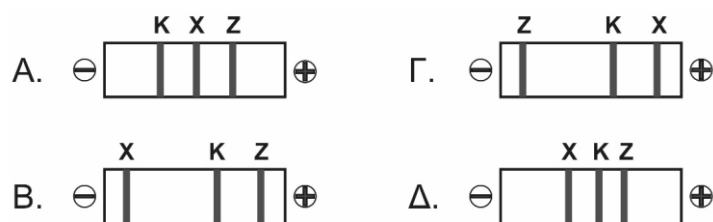
Το διπλανό τμήμα DNA έχει τις θέσεις αναγνώρισης I και II για μια περιοριστική ενδονουκλεάση.

I	II
K	X Z

Μετά τη δράση της δημιουργούνται τα θραύσματα Α, Β και Γ.

Σε μία ηλεκτροφόρηση εφαρμόζεται ηλεκτρικό πεδίο ώστε τα θραύσματα DNA να κινηθούν και να ξεχωρίσουν βάση μεγέθους.

Ποια εικόνα απεικονίζει καλύτερα το αποτέλεσμα της ηλεκτροφόρησης αυτού του τμήματος;



 Να χαρακτηρίσετε με Σ (σωστό) ή με Λ (λάθος) τις παρακάτω προτάσεις

1. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες μπορούν να δράσουν στο DNA οποιουδήποτε οργανισμού που έχει δίκλωνο DNA ως γενετικό υλικό. ()
 2. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες ενός βακτηρίου μπορούν να κόψουν το DNA ενός άλλου βακτηρίου. ()
 3. Η περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI κόβει το πλασμίδιο και δημιουργεί τις μονόκλωνες ουρές από αζευγάρωτες βάσεις GAAT και CTTA. ()
 4. Για τη δημιουργία μιας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης, η περιοριστική ενδονουκλεάση που θα χρησιμοποιήσουμε για να κόψουμε το πλασμίδιο μπορεί να είναι διαφορετική από αυτή, την οποία θα χρησιμοποιήσουμε για να κόψουμε το ανθρώπινο γονίδιο. ()
 5. Τα πλασμίδια περιέχουν μία θέση αναγνώρισης από την περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI. ()
 6. Ο βακτηριοφάγος λ χρησιμοποιείται ως φορέας για μικρά κομμάτια ξένου DNA. ()
 7. Η DNA δεσμάση μπορεί να ενώσει τμήματα αλυσίδων του DNA ενός οργανισμού, αλλά και τμήματα DNA διαφορετικών οργανισμών. ()
 8. Το ανασυνδυασμένο DNA περιέχει γονίδια από δυο ή περισσότερους οργανισμούς. ()
 9. Στο ανασυνδυασμένο DNA, το DNA του φορέα και το DNA του δότη ενώνονται με τη βοήθεια του ενζύμου DNA πολυμεράση. ()
 10. Τα πλασμίδια περιέχουν γονίδια που προσφέρουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά. ()
 11. Ως ξενιστής χρησιμοποιείται το βακτήριο που περιέχει πλασμίδιο. ()
 12. Μετασχηματισμός είναι η αύξηση της διαπερατότητας του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος. ()
 13. Η χρήση αντιβιοτικού μας βοηθά να εντοπίσουμε τους μετασχηματισμένους κλώνους βακτηρίων με το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο. ()
 14. Η χρήση αντιβιοτικού μας βοηθά να εντοπίσουμε τους κλώνους εκείνους που φέρουν το επιθυμητό γονίδιο. ()
-
15. Ένα επιθηλιακό και ένα μυϊκό κύτταρο του ανθρώπου έχουν όμοιες γονιδιωματικές βιβλιοθήκες. ()
 16. Ένας υποκινητής ανιχνεύεται σε μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη. ()
 17. Κάθε βακτηριακός κλώνος προκύπτει από ένα μόνο βακτήριο. ()
-

18. Με τη βοήθεια της cDNA βιβλιοθήκης κλωνοποιούμε μόνο τα εξώνια, από τα γονίδια ενός ευκαρυωτικού κυττάρου που εκφράζονται και κωδικοποιούν πρωτεΐνες. ()
19. Με τη βοήθεια της cDNA βιβλιοθήκης κλωνοποιούμε αποκλειστικά το γονίδιο που επιθυμούμε. ()
20. Με τη βοήθεια της cDNA βιβλιοθήκης κλωνοποιούμε και γονίδια tRNA. ()
21. Η cDNA βιβλιοθήκη περιέχει μικρότερη ποσότητα γενετικού υλικού ενός οργανισμού απ' ότι η γονιδιωματική του βιβλιοθήκη. ()
22. Ένας βακτηριακός κλώνος, σε μια cDNA βιβλιοθήκη ευκαρυωτικού οργανισμού, περιέχει ένα μόνο γονίδιο του οργανισμού δότη. ()
23. Το cDNA **δεν** περιέχει εσώνια. ()
24. Το cDNA χρησιμεύει σαν καλούπι για τη σύνθεση του συμπληρωματικού κλώνου, με τη βοήθεια της αντίστροφης μεταγραφάσης. ()
25. Στην κατασκευή της cDNA βιβλιοθήκης χρησιμοποιείται το ένζυμο DNA δεσμάση. ()
26. Για την παραγωγή μιας ανθρώπινης πρωτεΐνης είναι ευκολότερο να ανατρέξουμε στην κατάλληλη cDNA βιβλιοθήκη ενός οργανισμού, αντί της γονιδιωματικής του βιβλιοθήκης. ()
27. Ποιες από τις παρακάτω πληροφορίες μπορούμε να αντλήσουμε από τη σύγκριση μιας cDNA και μιας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης ευκαρυωτικού κυττάρου; Να χαρακτηρίσετε τις παρακάτω προτάσεις ως σωστή (Σ) ή ως λάθος (Λ).
- i. Παρουσία εσώνων. ()
 - ii. Ρυθμιστικές αλληλουχίες γονιδίων. ()
 - iii. Ποια γονίδια μεταφράζονται στο συγκεκριμένο στάδιο ανάπτυξης του κυττάρου. ()
 - iv. Ποσοστό γονιδιώματος που **δεν** περιέχει γονίδια. ()
-
28. Αποδιάταξη του DNA μπορεί να επιτευχθεί με επίδραση κατάλληλων χημικών ουσιών. ()
29. Η υβριδοποίηση χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό του επιθυμητού κλώνου και στα δύο είδη βιβλιοθηκών. ()
30. Για να γίνει κλωνοποίηση ενός μορίου DNA, μέσω της τεχνικής PCR, θα πρέπει να το απομονώσουμε από άλλα μόρια DNA. ()
31. Η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης είναι μια μέθοδος κλωνοποίησης. ()

✚ Να αντιστοιχίσετε τους όρους που αναγράφονται στη στήλη I με τις έννοιες ή τις φράσεις που αναγράφονται στη στήλη II. Για το σκοπό αυτό να γράψετε, δίπλα από κάθε γράμμα της στήλης I, τον αριθμό που ταιριάζει από τη στήλη II (π.χ. Α. 1)

1.

I	II
A. Ανασυνδυασμένο DNA	1. Επιλογή επιθυμητού βακτηριακού κλώνου
B. Φορέας κλωνοποίησης	2. Τεχνητό μόριο που περιέχει γονίδια από δύο ή περισσότερους οργανισμούς
Γ. Ανιχνευτής	3. Περιέχει το συνολικό DNA του δότη
Δ. cDNA βιβλιοθήκη	4. Αυτοδιπλασιάζεται ανεξάρτητα σε ένα κύτταρο-ξενιστή
Ε. Γονιδιωματική βιβλιοθήκη	5. Περιέχει «αντίγραφα» του ολικού mRNA

2.

I	II
A. Πλασμίδιο	1. Ξενιστής
B. Βακτήριο	2. cDNA
Γ. EcoRI	3. Ένζυμο
	4. Φορέας

B. ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΑΝΟΙΚΤΟΥ ΤΥΠΟΥ

✚ **Ανάκλησης:**

1. Η Γενετική Μηχανική άνοιξε δρόμο για την επίτευξη δύο θεμελιωδών στόχων του ανθρώπου. Ποιοι είναι αυτοί οι στόχοι;
2. Ποια είναι τα στάδια της μεταφοράς γενετικού υλικού από έναν οργανισμό σε άλλον;
3. Ποια βακτήρια χρησιμοποιούνται για μετασχηματισμό και πώς επιτυγχάνεται αυτός;
4. Πόσες θέσεις αναγνώρισης διαθέτει ένα πλασμίδιο, που χρησιμοποιείται ως φορέας κλωνοποίησης; Αιτιολογείστε την απάντησή σας.
5. ΠΕ '03
Τι ονομάζεται υβριδοποίηση νουκλεϊκών οξέων;
6. ΠΕ επαν. '05
Τι μπορούμε να πετύχουμε με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και ποιες είναι οι πρακτικές της εφαρμογές;

Κρίσης – συνδυασμού – σύγκρισης:

1. ☞ Να συγκρίνετε τα τμήματα του ολικού DNA που προκύπτουν μετά από τη δράση μιας περιοριστικής ενδονουκλεάσης.
2. 👁 ΠΕ επαν. '02
Ποια είναι η σκοπιμότητα της προσθήκης αντιβιοτικού στο θρεπτικό υλικό, κατά τη διαδικασία δημιουργίας μιας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης;
3. ☞ Σε ένα πλασμίδιο, που συχνά χρησιμοποιείται ως φορέας κλωνοποίησης, συνέβη μια αλλαγή (μετάλλαξη) στην αλληλουχία των βάσεων του. Μετά τη μετάλλαξη κρίθηκε ακατάλληλος ως φορέας κλωνοποίησης. Να προσδιορίσετε τις πιθανές θέσεις του πλασμιδίου που συνέβη η μετάλλαξη ώστε να επηρεαστεί η καταλληλότητά του.
4. ☞ Απαραίτητη προϋπόθεση, για να χρησιμοποιηθεί ένα μόριο ως φορέας κλωνοποίησης, είναι να μπορεί να αυτοδιπλασιάζεται ανεξάρτητα μέσα σε ένα κύτταρο ξενιστή. Δώστε μια εξήγηση για τη θέση αυτή.
5. ☞ Δύο βακτηριοφάγοι που ανήκουν στο ίδιο είδος μολύνουν δύο διαφορετικά είδη βακτηρίων. Μετά από λίγη ώρα, στο ένα είδος βακτηρίου οι βακτηριοφάγοι πολλαπλασιάζονται ενώ στο άλλο όχι. Να δώσετε μια εξήγηση.
6. ① Από ένα βακτήριο απομονώνουμε δυο περιοριστικές ενδονουκλεάσες A και B. Ελέγχουμε την ικανότητα κατάτμησης των δυο ενζύμων επί του γενετικού υλικού του βακτηρίου, το οποίο αποτελείται από το κύριο γενετικό υλικό και ένα πλασμίδιο. Μετά από τη δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης A διαπιστώνουμε ότι, τόσο το κύριο γενετικό υλικό όσο και το πλασμίδιο παραμένουν κυκλικά. Μετά από τη δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης B διαπιστώνουμε, ότι το μικρότερο κυκλικό μόριο έγινε γραμμικό. Τι συμπεράσματα μπορείτε να εξαγάγετε από τα παραπάνω, για τον πιθανό ρόλο της κάθε μιας περιοριστικής ενδονουκλεάσης;
7. ☞ '20
Σε κάθε μία από τις παρακάτω περιπτώσεις να εξηγήσετε αν θα προκύψουν θραύσματα ίσου ή διαφορετικού μήκους μετά τη δράση της EcoRI στο δίκλωνο DNA που περιέχουν:
 - α. δύο αδελφές χρωματίδες.
 - β. το 2ο ζεύγος ομολόγων χρωμοσωμάτων στον άνθρωπο (πριν το διπλασιασμό του γενετικού υλικού).
 - γ. δύο γονίδια β θαλασσαιμίας από διαφορετικούς ανθρώπους που εκδηλώνουν διαφορετική ένταση συμπτωμάτων της ασθένειας.
 - δ. δύο πλασμίδια από βακτήρια διαφορετικού είδους.

8. ☞ Χκου '19

Από τη δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης A σε ένα πλασμίδιο προκύπτουν 3 τμήματα, ενώ από τη δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης B στο ίδιο πλασμίδιο προκύπτουν 5 τμήματα. Από την ταυτόχρονη δράση και των δύο περιοριστικών ενδονουκλεασών στο ίδιο πλασμίδιο προκύπτουν 5 τμήματα. Πώς μπορεί να εξηγηθεί αυτό;

.....

9. ☞ Ποια συστατικά είναι απαραίτητα για την κατασκευή μιας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης;

10. ☞ Ποια συστατικά είναι απαραίτητα για την κατασκευή μιας cDNA βιβλιοθήκης;

11. ☞ Τα παγκρεατικά και τα νευρικά κύτταρα του ανθρώπου έχουν ίδιες ή διαφορετικές:

α. γονιδιωματικές βιβλιοθήκες;

β. cDNA βιβλιοθήκες;

12. ☞* Χκου '20

Η ερευνήτρια Amalia Corneli απομόνωσε το γενετικό υλικό ευκαρυωτικού οργανισμού με σκοπό την κλωνοποίησή του σε κύτταρα ξενιστές. Για τον ίδιο σκοπό διαθέτει δύο κατάλληλους φορείς κλωνοποίησης, πλασμίδιο και DNA φάγου, οι οποίοι διαθέτουν από μία θέση αναγνώρισης για την περιοριστική ενδονουκλεάση *Ama*RI σε κατάλληλη θέση.

Επεξεργάζεται το ολικό DNA δότη και τους φορείς με την *Ama*RI και μοιράζει το σύνθετο μίγμα τμημάτων, που προέκυψε από το ολικό DNA δότη, σε δύο δοκιμαστικούς σωλήνες A και B. Στον δοκιμαστικό σωλήνα A προσθέτει τα γραμμικά πλασμίδια, ενώ στο B το γραμμικό DNA φάγου.

Να εξηγήσετε εάν οι γονιδιωματικές βιβλιοθήκες που κατασκευάστηκαν, θα είναι ίδιες ή όχι;

13. ☞ Είναι γνωστό ότι τα σωματικά κύτταρα των πολυκύτταρων ευκαρυωτικών οργανισμών περιέχουν το ίδιο γενετικό υλικό αλλά εκφράζουν διαφορετικά γονίδια, λόγω κυτταρικής διαφοροποίησης. Να προτείνετε μια πειραματική διαδικασία, με την οποία μπορείτε να διαπιστώσετε πόσα είναι τα γονίδια που εκφράζονται σε ένα συγκεκριμένο τύπο κυττάρου μια συγκεκριμένη χρονική στιγμή.

.....

14. ① Σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο ένα γονίδιο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή μιας πρωτεΐνης 148 αμινοξέων. Αν το ίδιο γονίδιο κλωνοποιηθεί σε ένα βακτηριακό πληθυσμό, θα παραχθεί η ακριβής πρωτεΐνη; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

15. ☞ Θέλετε να μελετήσετε τον υποκινητή ενός γονιδίου:

α. Τι είδους βιβλιοθήκη θα κατασκευάσετε; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

β. Πώς θα γίνει η επιλογή του βακτηριακού κλώνου που περιέχει τον υποκινητή;

γ. Πώς θα γίνει η απομόνωση του υποκινητή;

16. ☞ Έχετε απομονώσει τρία διαφορετικά τμήματα DNA. Το πρώτο περιέχει τον υποκινητή του γονιδίου της προϊνσουλίνης, το δεύτερο ένα εσώνιο του ίδιου γονιδίου και το τρίτο την 5' αμετάφραστη περιοχή του ίδιου γονιδίου. Ποιο από τα τρία τμήματα μπορεί να χρησιμοποιηθεί (ως ανιχνευτής), ώστε να εντοπισθεί ο κλώνος που περιέχει το γονίδιο της προϊνσουλίνης;

α. σε μια cDNA και

β. σε μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

17. ☞ Σε ποιες περιπτώσεις παρατηρήσατε αποδιάταξη νουκλεϊκών οξέων;

18. ☞ Σε ένα εργαστήριο, απομονώθηκε σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα το τμήμα του δίκλωνου DNA που αντιστοιχεί στο γονίδιο της πρωτεΐνης A. Στη συνέχεια το μόριο αποδιατάχθηκε με αύξηση της θερμοκρασίας. Στο σωλήνα προστέθηκαν στη συνέχεια μονόκλωνα μόρια mRNA (και πρόδρομα και ώριμα) του ίδιου γονιδίου. Χαμηλώνοντας τη θερμοκρασία επιτρέψαμε την εκ νέου υβριδοποίηση των συμπληρωματικών αλυσίδων. Εκτός από την περίπτωση υβριδοποίησης των δύο συμπληρωματικών αλυσίδων DNA-DNA μεταξύ τους, παρατηρήθηκε και υβριδοποίηση μεταξύ μιας αλυσίδας DNA και ενός μορίου mRNA. Ποια αλυσίδα του DNA υβριδοποιήθηκε με ποιο μόριο mRNA;

19. ☞ ΠΕ '02

Να περιγράψετε τις διαδικασίες στις οποίες γνωρίζετε ότι βρίσκει εφαρμογή η ιχνηθέτηση.

20. ☞ Για ποιο λόγο τα μόρια ανιχνευτές είναι μονόκλωνα και ιχνηθετημένα;

21. ☞ Έστω κωδικόνιο του επικρατούς γονιδίου A σωματικού κυττάρου που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη F.

I A T G

II T A C

Το γονίδιο εδράζεται στο 7ο χρωμόσωμα, ενώ η αλυσίδα I είναι η κωδική και η αλυσίδα II είναι η μη κωδική.

i. Στο εν λόγω κωδικόνιο του γονιδίου A πραγματοποιείται μετάλλαξη αντικατάστασης του ζεύγους βάσεων G-C με T-A. Μετά τη μετάλλαξη η EcoRI κόβει το μόριο DNA με το γονίδιο A σε X+1 θραύσματα, ενώ πριν τη μετάλλαξη το έκοβε σε X θραύσματα. Ποια είναι η προηγούμενη (αριστερά του κωδικονίου) αζωτούχος βάση και ποια η επόμενη (δεξιά του κωδικονίου) βάση στην αλυσίδα II στο μόριο αυτό του DNA;

α. προηγούμενη C και επόμενη A

β. προηγούμενη A και επόμενη C

γ. προηγούμενη T και επόμενη G

δ. προηγούμενη G και επόμενη T

Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

- ii. Για την παραγωγή της πρωτεΐνης F, που κωδικοποιείται από το φυσιολογικό γονίδιο A με τις μεθόδους της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA σε βιοαντιδραστήρα, κατασκευάζουμε μια cDNA βιβλιοθήκη. Εάν επιθυμούμε να επιλέξουμε από τη βιβλιοθήκη τον βακτηριακό κλώνο που περιέχει το γονίδιο A, ποια από τις παρακάτω αλληλουχίες βάσεων αποτελεί τον καταλληλότερο ανιχνευτή που θα υβριδοποιηθεί με τη συγκεκριμένη περιοχή του γονιδίου A;

α. G A U G A C G U A A G A U

β. G A U C U U G U A A G A U

γ. G A U G A A G U U U G A U

δ. G A U G A A G A A G A A U

Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

22. ☞ Πώς θα μπορούσαμε να διαπιστώσουμε εάν ένα φυτό έχει μολυνθεί από RNA ιό;
23. ☞ Οι ιοί είναι γνωστό ότι αποτελούν μολυσματικούς παράγοντες. Ωστόσο αποδεικνύονται πολύτιμα εργαλεία στη Βιοτεχνολογία. Να αναφέρετε τους τρόπους με τους οποίους οι ιοί χρησιμοποιούνται για το σκοπό αυτό.
24. ☛* Ακολούθως παρουσιάζονται οι δυνατές θεωρητικά μεταφορές γενετικού υλικού από έναν οργανισμό σε άλλο.
- Ευκαρυωτικός → Προκαρυωτικός
 - Προκαρυωτικός → Προκαρυωτικός
 - Ευκαρυωτικός → Ευκαρυωτικός
 - Προκαρυωτικός → Ευκαρυωτικός
- Τι είδους βιβλιοθήκη θα χρησιμοποιούσατε για την καθημία μεταφορά;
 - Να αναφέρετε συγκεκριμένο παράδειγμα (όπου είναι δυνατόν), για την καθημία μεταφορά.
 - Τι υποκινητή θα ενσωματώνατε στο προς μεταφορά γονίδιο, ώστε να εκφράζεται από τα κύτταρα που τροποποιήθηκαν;

Γ. ΑΣΚΗΣΕΙΣ - ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ

1. Σε ένα μόριο DNA δρουν δυο περιοριστικές ενδονουκλεάσες. Από τη δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης A στο μόριο του DNA δημιουργούνται 3 τμήματα, ενώ από τη δράση της B δημιουργούνται 2 τμήματα. Από τη δράση και των δυο μαζί στο ίδιο μόριο DNA δημιουργούνται 5 τμήματα. Τι συμπεραίνετε για τη μορφή του μορίου;

2. Μαυροματίδης, Χατζημόσχου

Το ένζυμο *NlaIV* κόβει ένα πλασμίδιο, που αποτελείται από 1.000 ζεύγη βάσεων, σε δύο σημεία. Αν το ένα τμήμα που δημιουργείται έχει 600 ζεύγη βάσεων και περιέχει 350 αδενίνες (A), ενώ το άλλο τμήμα έχει 150 γουανίνες (G), να βρείτε:

- το % ποσοστό της κάθε βάσης στο πλασμίδιο.
- ποιο από τα δύο τμήματα του πλασμιδίου χρειάζεται μικρότερο ποσό θερμότητας για να αποδιαταχθεί;

Δίνεται ότι το ένζυμο *NlaIV* δημιουργεί δίκλωνα άκρα στα σημεία τομής του.

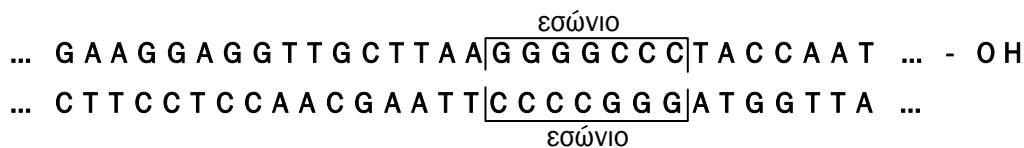
3. ① ΟΕΦΕ '03 θέμα 2^ο Α

Ένα μόριο DNA ενός χρωμοσώματος, το οποίο απομονώθηκε από σωματικό κύτταρο ενός προβάτου, περιέχει 1000 γονίδια, ενώ καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του κυττάρου αυτού, παράγει 300 διαφορετικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες.

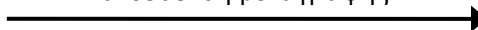
- Πού μπορεί να οφείλεται αυτή η διαφορά στον αριθμό των γονιδίων και των πολυπεπτιδικών αλυσίδων;
- Η επώαση αυτού του μορίου DNA με μια περιοριστική ενδονουκλεάση δημιουργεί διαφορετικό αριθμό θραυσμάτων, από εκείνον που προκύπτει από την επώαση ενός μορίου DNA του ομόλογου χρωμοσώματος με την ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση. Για ποιο λόγο συμβαίνει αυτό;

4. Σε ΠΕ '09

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



Κατεύθυνση μεταγραφής



- 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 μόριο 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)

5. ☞ ΠΕ '02

Δίνεται το παρακάτω τμήμα μορίου DNA προκαρυωτικού κυττάρου.

5' ... G A A T T C T T A A T G C A A G A T C A T A A G A A T T C T A G ... 3'
3' ... C T T A A G A A T T A C G T T C T A G T A T T T C T T A A G A T C ... 5'

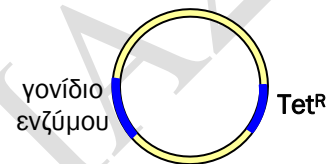
Το παραπάνω τμήμα κόβεται με EcoRI, προκειμένου να ενσωματωθεί σε κατάλληλο πλασμίδιο που έχει κοπεί με την ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση, με τελικό σκοπό να εισαχθεί σε βακτήριο για την παραγωγή φαρμακευτικού πολυπεπτιδίου. Να βρείτε την αλληλουχία των αμινοξέων του πολυπεπτιδίου με χρήση του γενετικού κώδικα.

6. ☞ Ένα δίκλωνο γραμμικό τμήμα DNA έχει μήκος (AB) = 40 kb. Με την επίδραση της EcoRI κόβεται σε δύο κομμάτια μήκους (ΑΓ) = 18 kb και (ΓΒ) = 22 kb. Με την επίδραση της Hind III κόβεται σε τρία κομμάτια μήκους (ΑΔ) = 7 kb, (ΔΕ) = 18 kb και (ΕΒ) = 15 kb. Αν επιδράσουν και τα δύο ένζυμα μαζί στο ίδιο μόριο DNA, τι μήκος θα έχουν τα τμήματα που θα προκύψουν; Δίνεται ότι 1 kb = 10^3 ζεύγη βάσεων.

7. ① Το φυσιολογικό στέλεχος (Φ) της *Escherichia coli* διαθέτει γενετικές πληροφορίες στο κύριο DNA του, για τη σύνθεση του ενζυμικού εξοπλισμού που απαιτείται, τόσο για τη διάσπαση της γλυκόζης όσο και της λακτόζης. Ένα μεταλλαγμένο στέλεχος (M₁) έχει χάσει την ικανότητα μεταβολισμού της γλυκόζης και ένα άλλο και ένα άλλο μεταλλαγμένο στέλεχος (M₂) έχει χάσει την ικανότητα μεταβολισμού της λακτόζης. Για απλούστευση, ας θεωρήσουμε πως οι γενετικές αυτές πληροφορίες υπάρχουν σε ένα αντίγραφο, στο απλοειδές γονιδίωμα του βακτηρίου.

- α. Εάν διαθέτετε τα στελέχη M_1 και M_2 , καθώς και πλασμίδια που φέρουν γονίδιο ανθεκτικότητας για την αμπικιλίνη, να περιγράψετε τη μέθοδο που θα ακολουθήσετε για να επαναφέρετε το στέλεχος M_1 στη φυσιολογική του κατάσταση.
- β. Πόσα διαφορετικά είδη βακτηρίων προκύπτουν μετά την προσπάθεια μετασχηματισμού; Πώς θα μπορούσαμε να τα ξεχωρίσουμε, εάν δεν είναι διαθέσιμη στο εργαστήριο η μέθοδος της υβριδοποίησης.
- γ. Να δείξετε σε διάγραμμα, πώς θα ήταν η ανάπτυξή τους σε υγρή καλλιέργεια που περιείχε και τα δύο θρεπτικά υλικά (και τη γλυκόζη και τη λακτόζη).

8. ☞ Κατασκευάζετε ένα τεχνητό πλασμίδιο με σκοπό την κλωνοποίηση επιλεγμένου τμήματος DNA. Το τεχνητό πλασμίδιο περιέχει ένα γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό τετρακυκλίνη (Tet^R) και ένα γονίδιο που κωδικοποιεί ένζυμο, που μετατρέπει μια κίτρινη χρωστική ουσία σε καφέ. Το γονίδιο που κωδικοποιεί το ένζυμο, περιέχει μια αλληλουχία που αναγνωρίζεται από την $EcoRI$.

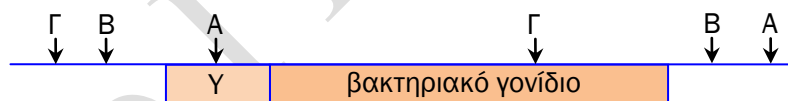


Αφού πραγματοποιήσατε όλα τα στάδια παραγωγής ανασυνδυασμένου DNA και μετασχηματίσατε βακτήρια-ξενιστές που δεν περιέχουν πλασμίδια, σας προέκυψαν:

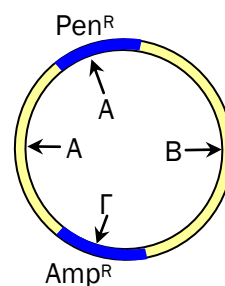
- α. κίτρινες αποικίες ανθεκτικές στη τετρακυκλίνη και
β. καφέ αποικίες ανθεκτικές στη τετρακυκλίνη.

Να εξηγήσετε, από ποια αποικία θα επιλέξετε τα βακτήρια που περιέχουν το επιλεγμένο τμήμα DNA;

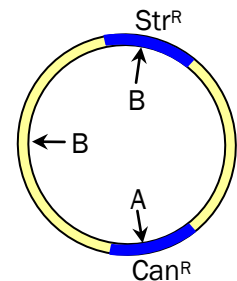
9. ☞ Με βάση τα στοιχεία που παρουσιάζονται στα ακόλουθα σχήματα, ποια περιοριστική ενδονουκλεάση, ποιο πλασμίδιο και ποιο αντιβιοτικό θα επιλέξουμε προκειμένου:



- α. να κλωνοποιήσουμε μόνο τον υποκινητή;
β. να κλωνοποιήσουμε μόνο το γονίδιο;
γ. να παράγουμε την επιθυμητή πρωτεΐνη;



πλασμίδιο I



πλασμίδιο II

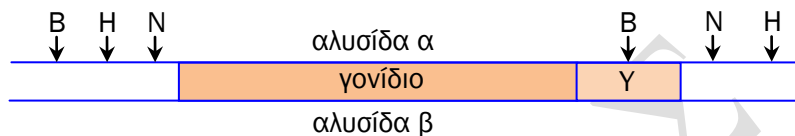
Τα σημεία A, B και Γ δείχνουν τις θέσεις αναγνώρισης των αντίστοιχων περιοριστικών ενδονουκλεασών. Τα γονίδια Pen^R , Amp^R , Str^R και Can^R προσφέρουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά πενικιλίνη, αμπικιλίνη, στρεπτομυκίνη και καναμυκίνη αντίστοιχα.

Να συμπληρώσετε τα κενά του πίνακα, επιλέγοντας την κατάλληλη περιοριστική ενδονουκλεάση (ΠΕ), το κατάλληλο πλασμίδιο και το κατάλληλο αντιβιοτικό για κάθε υποερώτημα.

	ΠΕ	Πλασμίδιο	Αντιβιοτικό
α.			
β.			
γ.			

10. i Στα παρακάτω σχήματα παριστάνονται:

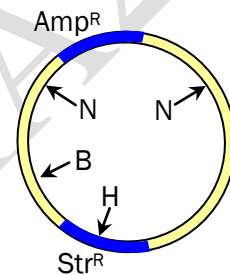
Ένα τμήμα βακτηριακού DNA, στο οποίο περιέχεται ένα γονίδιο που κωδικοποιεί



μια πρωτεΐνη και ο υποκινητής του.

Ένα πλασμίδιο που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί ως φορέας κλωνοποίησης και περιέχει δύο γονίδια Amp^R και Str^R που προσφέρουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά αμπικιλίνη και στρεπτομυκίνη αντίστοιχα.

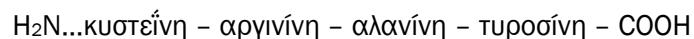
Τα σημεία B, N και H δείχνουν τις θέσεις αναγνώρισης των περιοριστικών ενδονουκλεασών BamHI, NotI και HindIII αντίστοιχα.



- Να εξηγήσετε ποια από τις τρεις περιοριστικές ενδονουκλεάσες είναι κατάλληλη για την κλωνοποίηση του παραπάνω γονιδίου και την παραγωγή της πρωτεΐνης που κωδικοποιεί;
- Κατά τη διαδικασία επιλογής του βακτηριακού κλώνου που περιέχει το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο, ποιο είναι το αντιβιοτικό που πρέπει να χρησιμοποιηθεί;
- Αν η αλυσίδα α του γονιδίου είναι η κωδική να σημειώσετε τα ελεύθερα άκρα του βακτηριακού DNA. Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.
- ☛ Κατά την αντιγραφή του παραπάνω πλασμιδίου στο κυτταρόπλασμα ενός βακτηρίου, το πριμόσωμα επέδρασε 12 φορές για το σχηματισμό ισάριθμων πρωταρχικών τμημάτων. Πόσα είναι τα ασυνεχή και πόσα τα συνεχή τμήματα, τα οποία σχηματίζονται σε κάθε νέα αλυσίδα DNA που προκύπτει από την αντιγραφή του DNA;

Το mRNA που παράγεται κατά τη μεταγραφή του γονιδίου κωδικοποιεί μια πολυπεπτιδική αλυσίδα που αποτελείται από 80 αμινοξέα.

Το ακόλουθο τμήμα mRNA 3'...UAU UCG AGC CGU...5' κωδικοποιεί τα τέσσερα τελευταία αμινοξέα της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, τα οποία είναι:



- Όταν το tRNA που μεταφέρει την κυστεΐνη απομακρύνεται από το mRNA, πόσοι δεσμοί υδρογόνου σπάζουν μεταξύ του κωδικονίου και του αντικωδικονίου;
- ☛ Πόσα αμινοξέα θα μεταφέρει πλέον το tRNA στο οποίο συνδέθηκε η κυστεΐνη;
- Ποιο αμινοξύ μεταφέρει το tRNA που ακολούθως εισέρχεται στο ριβόσωμα και με ποια αμινοξέα πρόκειται αυτό να σχηματίσει πεπτιδικό δεσμό;

11. 11. 10

Δίνεται το παρακάτω δίκλωνο τμήμα DNA το οποίο αντιγράφεται *in vitro*.

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

Κατά τη διάρκεια της αντιγραφής οι DNA πολυμεράσες ενσωματώνουν κατά λάθος στη θέση 12, απέναντι από το νουκλεοτίδιο A (αδενίνη) το νουκλεοτίδιο C (κυτοσίνη), αντί του νουκλεοτιδίου T (θυμίνη). Το λάθος αυτό παραμένει και μετά το τέλος της αντιγραφής.

- α. Να γράψετε τα δίκλωνα τμήματα DNA που θα προκύψουν μετά το τέλος της αντιγραφής και να δικαιολογήσετε την απάντησή σας. (μονάδες 16)
- β. 1. Πόσα τμήματα DNA θα προκύψουν, αν μετά το τέλος της αντιγραφής προσθέσουμε στο μίγμα το ένζυμο EcoRI. Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας. (μονάδες 9)

12. 12. 10

GGATGCACTGUGUGACAGTACACCATGTAGCATGCACAAATGATGCTGAUUCAGCUU ...
CCTACGTGACACACTGTCGATTCATGTGGTACATCGTACGTGTTTACTACGACTAAGTCGAA ...

- α. Να προσδιορίσετε τη διαδικασία και τα άκρα κάθε αλυσίδας.
- β. Να περιγράψετε το ρόλο των ενζύμων που θα ολοκληρώσουν τη διαδικασία.
- γ. Εάν στο τμήμα υπάρχει μία θέση έναρξης της διαδικασίας, να εξηγήσετε εάν αυτή βρίσκεται στο αριστερό ή στο δεξί άκρο.
- δ. Στο τμήμα περιέχεται η πληροφορία για την κλωνοποίηση ενός ολιγοπεπτιδίου 10 αμινοξέων. Να προσδιορίσετε το πεπτίδιο (αλληλουχία αμινοξέων και άκρα), με βάση το γενετικό κώδικα.
- δ. Η περιοριστική ενδονουκλεάση TaqI αναγνωρίζει την αλληλουχία $5' T \nabla C G A 3'$ και κόβει σε κάθε κλώνο, με κατεύθυνση $5' \rightarrow 3'$, μεταξύ T και C.
 - i. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί η TaqI για την κλωνοποίηση του πεπτιδίου σε βακτήριο;
 - ii. Θα μπορούσε να γίνει η κλωνοποίηση του τμήματος με την EcoRI;
- ε. 1. Θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί η αλληλουχία $5' T A C G T G 3'$ για την επιλογή του βακτηριακού κλώνου με το επιθυμητό γονίδιο;
- στ. Γονιδιακή μετάλλαξη στο παραπάνω γονίδιο έχει ως αποτέλεσμα την έλλειψη μιας αδενίνης (A) στο κωδικόνιο λήξης. Ποια θα είναι η επίπτωση στην παραγωγή του πολυπεπτιδίου;

13. C '20

Η αλληλουχία γονιδίου που εισάγουμε σε πλασμίδιο είναι η παρακάτω:

CAGCGAGATGTTAAGACCACATTAGAAGTGG
GTCGCTCTACAATTCTGGTGTAAATCTTCACC

- α. Να βρείτε την κωδική αλυσίδα του γονιδίου που παράγει το πενταπεπτίδιο, να βάλετε τα 5' και 3' άκρα στο DNA και να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.
- β. Σε κάποια από τα βακτήρια που μετασχηματίστηκαν με το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο παράγεται το πενταπεπτίδιο, ενώ σε κάποια άλλα παράγεται αντί αυτού ένα τριπεπτίδιο. Πώς εξηγείτε το παραπάνω γεγονός;

14. C ΠΕ επαν. '15 ΘΕΜΑ Δ

Στην **εικόνα 2** απεικονίζεται ένα ασυνεχές γονίδιο ανθρώπινου ηπατικού κυττάρου. Το γονίδιο αυτό είναι υπεύθυνο για την παραγωγή του ολιγοπεπτιδίου της **εικόνας 3**.

Εικόνα 2

5' GCTCAGCAGTAGGCAATTCTGCTTCCACATCT 3'
3' CGAGTCGTCATCCGTTAAGACGAAGGTGTAGA 5'

Εικόνα 3

H₂N-trp-lys-pro-tyr-cys-COOH

- Δ1. Να εντοπίσετε και να γράψετε την αλληλουχία βάσεων του εσωνίου του γονιδίου της **εικόνας 2** (μονάδες 2). Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 4). Μονάδες 6
- Δ2. Να γράψετε το πρόδρομο μόριο του mRNA που δημιουργείται από τη μεταγραφή του γονιδίου της **εικόνας 2** (μονάδα 1). Να γράψετε το ώριμο mRNA που προκύπτει από τη διαδικασία της ωρίμανσης (μονάδες 2).

Μονάδες 3

Ένας ερευνητής θέλει να κλωνοποιήσει το γονίδιο της **εικόνας 2** για να το μελετήσει. Επίσης, θέλει να κλωνοποιήσει το ίδιο γονίδιο, για την παραγωγή του ολιγοπεπτιδίου της **εικόνας 3**, από βακτηριακή καλλιέργεια σε μεγάλη ποσότητα.

- Δ3. Τι είδους βιβλιοθήκη θα πρέπει να κατασκευάσει σε καθεμία περίπτωση (μονάδες 2); Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 4).

Μονάδες 6

Ο ίδιος ερευνητής έχει στην διάθεσή του μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη και μία cDNA βιβλιοθήκη ανθρώπινων ηπατικών κυττάρων και τα δύο μόρια ανιχνευτές A και B της **εικόνας 4**.

Εικόνα 4

5' CAATTCT 3'	5' GAUGUGG 3'
Ανιχνευτής A	Ανιχνευτής B

Δ4. Να διερευνήσετε την καταλληλότητα του ανιχνευτή A και του ανιχνευτή B να εντοπίζει σε κάθε μια από τις δύο βιβλιοθήκες το βακτηριακό κλώνο που περιέχει το υπεύθυνο γονίδιο για τη σύνθεση του ολιγοπεπτιδίου της **εικόνας 3**.

Μονάδες 6

Δ5. Να εξηγήσετε γιατί ο αριθμός των αμινοξέων του ολιγοπεπτιδίου της **εικόνας 3** είναι διαφορετικός από τον αριθμό των κωδικονίων του ώριμου mRNA από το οποίο προκύπτει.

Μονάδες 4

Δίνονται:

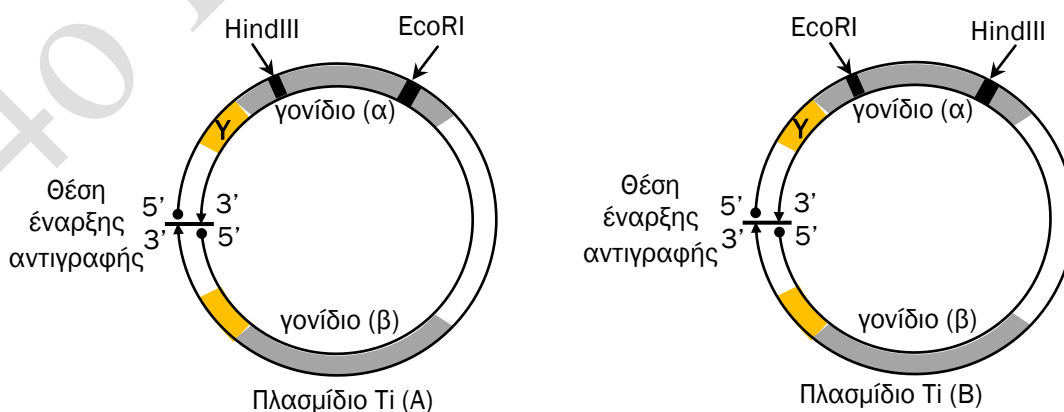
Κωδικόνια	5' UGG 3'	5' CCC 3'	5' UGC 3'	5' AAG 3'	5' UAC 3'
Αμινοξέα	trp	pro	cys	lys	tyr

15. (i) ΟΕΦΕ Β '16 Δ

Το παρακάτω τμήμα DNA έχει απομονωθεί από το πλασμίδιο του βακτηρίου *Bacillus thuringiensis* και περιέχει το γονίδιο που κωδικοποιεί την τοξίνη Bt, μιας κρυσταλλικής μορφής πρωτεΐνη (CryI), που καταστρέφει τα έντομα της τάξης των λεπιδοπτέρων (πεταλούδες). Το τμήμα αυτό DNA έχει αποκοπεί από το πλασμίδιο, με τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες EcoRI και HindIII.

Γονίδιο Bt A G C T T C T A C A T G C C T G A A C G A A C G T A C A T C C G
 A G A T G T A C G G A C T T G C T T G C A T G T A G G C T T A A

Αντίγραφα του τμήματος αυτού DNA ενσωματώνονται σε πλασμίδια Ti, που διαθέτουν το **ογκογονίδιο (α)** και **ένα γονίδιο (β)** ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό αμπικιλίνη, με σκοπό την τροποποίηση φυτικών κυττάρων καλαμποκιάς που διατηρούνται σε κυτταροκαλλιέργεια στο εργαστήριο. Στο σχήμα σημειώνονται οι θέσεις που κόβουν οι δύο περιοριστικές ενδονουκλεάσες το πλασμίδιο Ti.



4ο κεφάλαιο

Δ1. Να γράψετε με τον προσανατολισμό της, την αλληλουχία των έξι ζευγών βάσεων που αναγνωρίζει η περιοριστική ενδονουκλεάση **HindIII**, δείχνοντας με ένα βελάκι τη θέση που ακριβώς κόβει την αλληλουχία.

Μονάδες 3

Δ2. Αναφέρετε επιγραμματικά τα βήματα δημιουργίας των συγκεκριμένων διαγονιδιακών φυτών καλαμποκιάς. Πώς ονομάζονται αυτού του τύπου οι ποικιλίες φυτών;

Μονάδες 6 (5+1)

Δ3. Για την επιτυχή τροποποίηση των φυτικών κυττάρων της καλλιέργειας, ως φορείς κλωνοποίησης κατάλληλα είναι:

- α. μόνο το πλασμίδιο Α,
- β. μόνο το πλασμίδιο Β ή
- γ. και τα δύο πλασμίδια; Εξηγήστε την απάντησή σας.

Μονάδες 12

Δ4. ☛ Πραγματοποιούμε αυτογονιμοποίηση ενός φυτού καλαμποκιάς, που αναπτύχθηκε από ένα κύτταρο της καλλιέργειας που περιέχει την τοξίνη. Να βρεθεί η γονοτυπική και φαινοτυπική αναλογία των απογόνων του, όσον αφορά στην παραγωγή της τοξίνης (Bt).

Μονάδες 4

16. ☛ 1ο Λύκειο Ν. Σμύρνης

Η ακόλουθη αλληλουχία DNA (έστω αλληλουχία Z) απομονώθηκε στο εργαστήριο από το κύριο DNA φυσιολογικού κυττάρου *E. coli*.

5'CTTAGGGATCCCTTAGACATGGAG(CC)₁₂TGACGAAATG(GG)₇A(TAT)₃AGATAAGGATG(GAA)₁₂TTCTATTAACC3'
3'GAATCCCTAGGGAATCTGTACCTC(GG)₁₂ACTGCTTTAC(CC)₇T(ATA)₃TCTATTCCTAC(CTT)₁₂AAGAAATTGG5'

Στην αλληλουχία Z περιλαμβάνεται ο χειριστής και τα δομικά γονίδια του οπερονίου της λακτόζης. Η αλληλουχία **5'-GGATCC-3'** αποτελεί το χειριστή του οπερονίου της λακτόζης.
3'-CCTAGG-5'

Δ1. Να γράψετε τις αλληλουχίες βάσεων που κωδικοποιούν τα ένζυμα στο μόριο mRNA που προκύπτει από τη μεταγραφή της αλληλουχίας Z. Να μην αιτιολογήσετε την απάντησή σας και να διατηρήσετε τις παρενθέσεις για τη συντομογραφία των βάσεων.

Μονάδες 2

Δ2. Να προσδιορίζετε τον αριθμό των αμινοξέων κάθε ενζύμου που παράγεται από το οπερόνιο. Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

Μονάδες 6

Η περιοριστική ενδονουκλεάση A αναγνωρίζει την αλληλουχία **5'-CTTAG-3'** και κόβει κάθε αλυσίδα μεταξύ C και T. Η αλληλουχία Z τέμνεται από την περιοριστική ενδονουκλεάση A.

Δ3. Να γράψετε το τμήμα με μονόκλωνα άκρα που προκύπτει από τη επίδραση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης A στην αλληλουχία Z και να εξηγήσετε πόσοι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί και πόσοι δεσμοί υδρογόνου έσπασαν κατά τη δημιουργία του.

Μονάδες 5

Ένα πλασμίδιο φέρει μία φορά την αλληλουχία που αναγνωρίζει η περιοριστική ενδονουκλεάση A, αμέσως μετά τον υποκινητή γονιδίου ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό αμπικιλίνη. Η αλληλουχία του υποκινητή (έντονα γράμματα) και του γονιδίου ανθεκτικότητας στο πλασμίδιο είναι:

5' ...**CAGCTC**CTTAGGGATGCTTTATAAATAACA... 3'

3' ...**GTCGAG**GAATCCCTACGAAATATTTATTGT... 5'

Το πλασμίδιο τέμνεται από την περιοριστική ενδονουκλεάση A και αναμιγνύεται με το τμήμα που γράψατε στο προηγούμενο ερώτημα, οπότε και προκύπτει ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.

- Δ4. α. Ποιο ένζυμο είναι απαραίτητο για τη σύνδεση των δύο αυτών τμημάτων;
 β. Ποιος είναι ο φυσιολογικός ρόλος του ενζύμου αυτού στα βακτήρια;
 γ. Να γράψετε την αλληλουχία βάσεων στο ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.
 δ. Από το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο παράγεται το πεπτίδιο που προσδίδει ανθεκτικότητα στην αμπικιλίνη. Με τη βοήθεια του γενετικού κώδικα, να γράψετε το πεπτίδιο αυτό και να σημειώσετε το αμινικό και καρβοξυλικό του άκρο. Να μην αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

Μονάδες 8 (1+3+2+2)

Το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο εισέρχεται σε βακτήριο *E. coli*, που δεν διαθέτει πλασμίδια και στο οποίο λόγω μετάλλαξης δεν λειτουργεί ο χειριστής του οπερονίου της λακτόζης.

Δ5. Να εξηγήσετε ποιες θα είναι οι συνέπειες για την επιβίωση του βακτηρίου, όταν αυτό καλλιεργηθεί σε θρεπτικό:

- α. με λακτόζη και αμπικιλίνη.
 β. με γλυκόζη και αμπικιλίνη.
 γ. με γλυκόζη χωρίς αμπικιλίνη.

Μονάδες 4 (2+1+1)

17. ①🔬 ΠΔΒ Α '20

Το mRNA κάθε ασυνεχούς γονιδίου μετά τη δημιουργία του υφίσταται ωρίμανση προκειμένου να απομακρυνθούν τα εσώνια τα οποία δεν φέρουν γενετική πληροφορία. Η αλληλουχία του πρόδρομου mRNA που αναγνωρίζεται ως εσώνιο και απομακρύνεται ξεκινάει από το δινουκλεοτίδιο 5'-GU... και καταλήγει στο δινουκλεοτίδιο ...AG-3', συμπεριλαμβανομένων των

δινουκλεοτιδίων αυτών. Σε κύτταρο ήπατος στον άνθρωπο εντοπίζεται το παρακάτω ασυνεχές γονίδιο, το οποίο μεταγράφεται και μεταφράζεται φυσιολογικά.

TCATGAATCCCATGTATGTATGGCAGCGGTTCATAAA
AGTACTTAGGGTACATACATACCGTCGCCAAGTATTT

Το ίδιο γονίδιο μεταφέρεται στην *E. coli* με την τεχνική της γονιδιωματικής βιβλιοθήκης και μεταφράζεται επίσης.

Πόσα αμινοξέα θα έχει το ολιγοπεπτίδιο που παράγεται στο ηπατικό κύτταρο και πόσα αμινοξέα θα έχει το ολιγοπεπτίδιο που παράγεται στην *E. coli*;

Εξηγήστε τη διαφορά. (μέχρι 30 λέξεις)

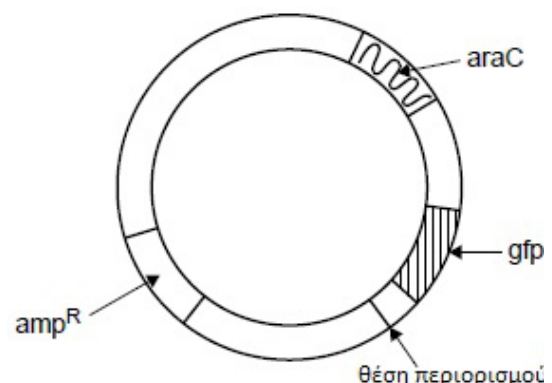
18. ☞ ΠΔΒ Β '16

Για την κλωνοποίηση ενός γονιδίου X, τα βήματα που ακολουθούνται είναι τα εξής:

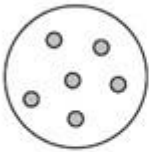
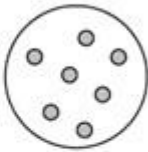
1. Το πλασμίδιο που εικονίζεται παρακάτω κόβεται από μία συγκεκριμένη περιοριστική ενδονουκλεάση.
2. Το γονίδιο X εισάγεται στο πλασμίδιο.
3. Τα πλασμίδια μετασχηματίζουν βακτήρια.
4. Τα βακτήρια αναπτύσσονται σε τρυβλία με θρεπτικό υλικό με άγαρ και συστατικά όπως φαίνονται στον πίνακα.

Αυτό το πλασμίδιο περιέχει θέση στην οποία κόβει η περιοριστική ενδονουκλεάση 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.



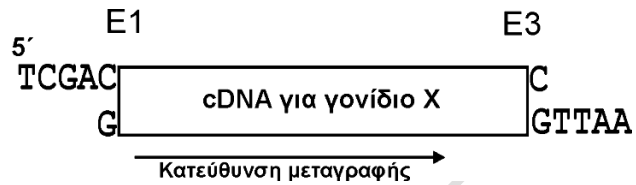
Στον παρακάτω πίνακα απεικονίζονται τα αποτελέσματα του πειράματος του βακτηριακού μετασχηματισμού.

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

- i. Τα βακτήρια χρησιμοποιούνται στη κλωνοποίηση του γονιδίου X διότι:
- περιέχουν περιοριστικές ενδονουκλεάσες που κόβουν τυχαία χρωμοσώματα σε θραύσματα ποικίλων μεγεθών.
 - προσφέρουν το αναγκαίο κυτταρικό περιβάλλον για τον πολλαπλασιασμό του φορέα κλωνοποίησης.
 - περιέχουν κυτταρικό τοίχωμα που τα καθιστά ανθεκτικά.
 - εκφράζουν μόνο τα ξένα γονίδια.
- ii. Ποιο τρυβλίο θα περιέχει βακτήρια που φθορίζουν σε υπεριώδη ακτινοβολία;
- τρυβλίο I
 - τρυβλίο II
 - τρυβλίο III
 - τρυβλίο IV
- iii. Σύμφωνα με την εικόνα στο τρυβλίο I αναπτύσσονται:
- μόνο μετασχηματισμένα βακτήρια.
 - μόνο μετασχηματισμένα βακτήρια με μη ανασυνδυασμένα πλασμίδια.
 - μόνο μετασχηματισμένα βακτήρια με ανασυνδυασμένα πλασμίδια.
 - βακτήρια μετασχηματισμένα και μη μετασχηματισμένα.
- iv. Στο τρυβλίο II:
- αναπτύσσονται βακτήρια που φέρουν πλασμίδια.
 - αναπτύσσονται βακτήρια που φέρουν ανασυνδυασμένα πλασμίδια.
 - αναπτύσσονται βακτήρια που φέρουν ανασυνδυασμένα πλασμίδια που φθορίζουν σε υπεριώδη ακτινοβολία.
 - δεν αναπτύσσονται βακτήρια.

19. ① ΠΕ επαν. '17

Έστω γονίδιο X (ασυνεχές) που κωδικοποιεί μια φαρμακευτική πρωτεΐνη η οποία εκφράζεται σε ένα ανθρώπινο κυτταρικό τύπο. Επιδιώκοντας την κλωνοποίηση του γονιδίου αυτού, συνθέτουμε το δίκλωνο cDNA του γονιδίου όπως φαίνεται στην **Εικόνα 2**. Το δίκλωνο cDNA φέρει στα άκρα του και εκτός των περιοχών του γονιδίου, θέσεις που αναγνωρίζουν δυο περιοριστικές ενδονουκλεάσες (E1 και E3), οι οποίες, όταν επιδράσουν στο δίκλωνο cDNA, αφήνουν τα μονόκλωνα άκρα που φαίνονται στην **Εικόνα 2**.

2. **Εικόνα 2**

Δ1. Ποιες είναι οι αλληλουχίες των 6 ζευγών βάσεων που αναγνωρίζει η κάθε μια από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες (E1 και E3) που χρησιμοποιήθηκαν;

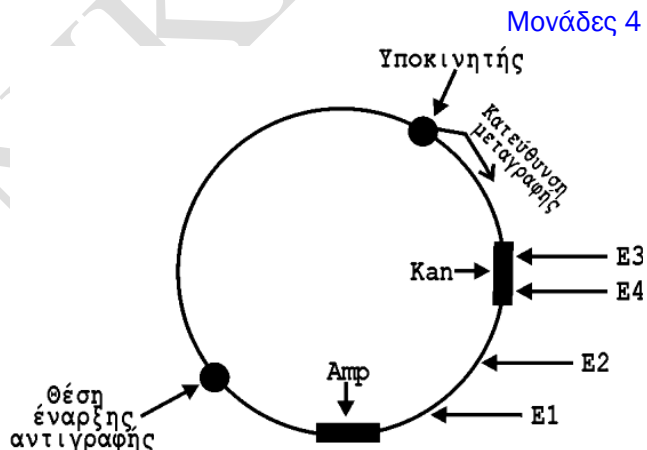
Μονάδες 6

Δ2. Ποια από τα παρακάτω δεν υπάρχουν στο cDNA του γονιδίου X;

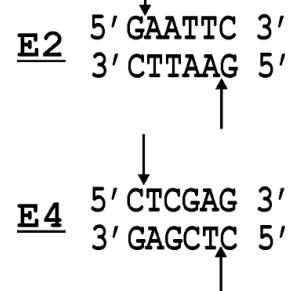
- 1) υποκινητής, 2) εξώνια, 3) εσώνια, 4) 5' αμετάφραστη περιοχή,
- 5) 3' αμετάφραστη περιοχή.

Μονάδες 4

Δ3. ☼ Θέλουμε να ενσωματώσουμε το cDNA του γονιδίου X στο πλασμίδιο της **Εικόνας 3**. Το πλασμίδιο περιέχει τις θέσεις που αναγνωρίζουν οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες E1, E2, E3 και E4. Στις θέσεις Amp και Kan του πλασμιδίου βρίσκονται τα γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά αμπικιλίνη και καναμυκίνη, αντίστοιχα.

**Εικόνα 3**

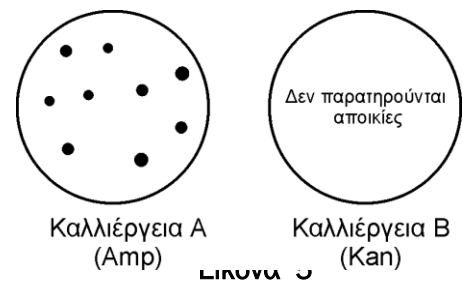
Στην **Εικόνα 4** που ακολουθεί απεικονίζονται οι ειδικές αλληλουχίες DNA που αναγνωρίζονται από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες E2 και E4 και με τα βέλη υποδηλώνονται οι θέσεις που κόβονται οι αλυσίδες.

**Εικόνα 4**

Ποιο ή ποια ένζυμο θα χρησιμοποιήσουμε για να κόψουμε το πλασμίδιο έτσι ώστε να ενσωματώσει το DNA της **Εικόνας 2** και να επιτύχουμε την έκφραση του από τον υποκινητή του πλασμιδίου της **Εικόνας 3**; (μονάδες 4) Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας. (μονάδες 6)

Μονάδες 10

Δ4. ☀ Στη συνέχεια της διαδικασίας κλωνοποίησης του γονιδίου μετασχηματίζουμε κύτταρα του βακτηρίου *E. coli* (*Escherichia coli*). Τα μισά από αυτά τα κύτταρα καλλιεργούνται σε θρεπτικό υλικό που περιέχει το αντιβιοτικό αμπικιλίνη (Εικόνα 5, καλλιέργεια Α) και τα άλλα μισά σε θρεπτικό υλικό που περιέχει το αντιβιοτικό καναμυκίνη (Εικόνα 5, καλλιέργεια Β). Να εξηγήσετε τα αποτελέσματα της ανάπτυξης των καλλιεργειών Α και Β όπως αυτά απεικονίζονται στην Εικόνα 5.



Μονάδες 5

20. ☀ ΠΕ '19 Γ3

Προκειμένου να μελετήσουμε το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη Α, το κλωνοποιούμε σε κατάλληλο πλασμίδιο φορέα (Εικόνα 3) που φέρει την αλληλουχία του οπερονίου της λακτόζης.

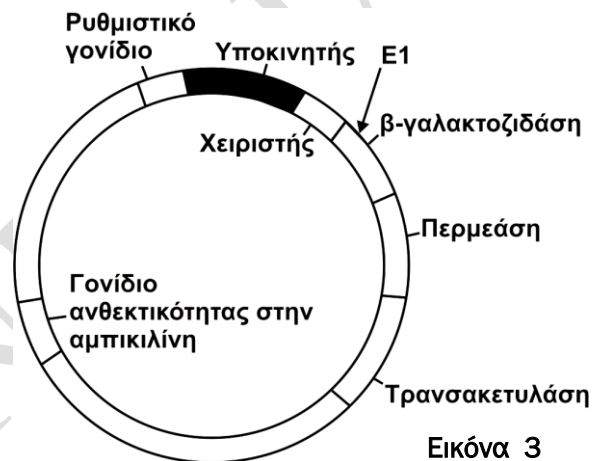
Το γονίδιο εισάγεται στο σημείο που κόβει η περιοριστική ενδονουκλεάση E1. Για τον μετασχηματισμό χρησιμοποιούμε ως βακτήρια ξενιστές στελέχη *E.coli* στα οποία δεν λειτουργεί το οπερόνιο της λακτόζης και είναι ευαίσθητα στην αμπικιλίνη.

Μετά τη διαδικασία του μετασχηματισμού, τα βακτήρια μεταφέρονται σε στερεό θρεπτικό υλικό με γλυκόζη ως πηγή άνθρακα και αντιβιοτικό αμπικιλίνη (καλλιέργεια Α, Εικόνα 4). Στη συνέχεια μεταφέρουμε δείγματα από

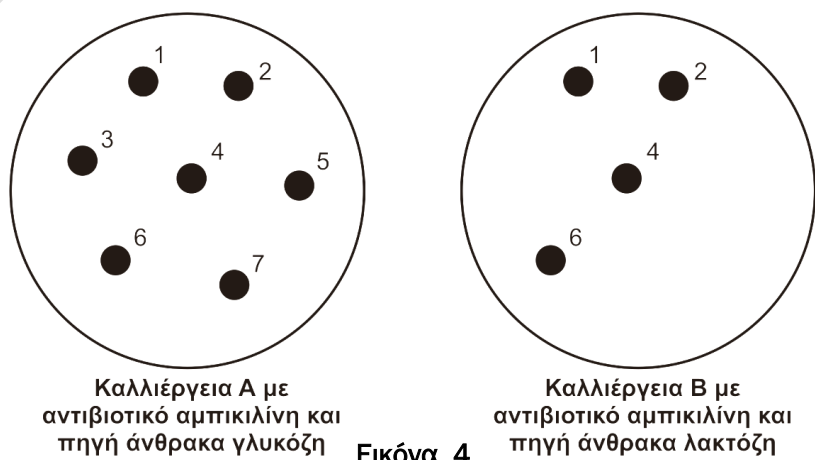
όλες τις αριθμημένες αποικίες σε νέο στερεό θρεπτικό μέσο που περιέχει λακτόζη και αμπικιλίνη, οπότε αναπτύσσεται η καλλιέργεια Β (Εικόνα 4).

Να αναφέρετε τα είδη των βακτηρίων που αναπτύσσονται στις δύο παραπάνω

καλλιέργειες Α και Β (μονάδες 3). Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 4).



Εικόνα 3



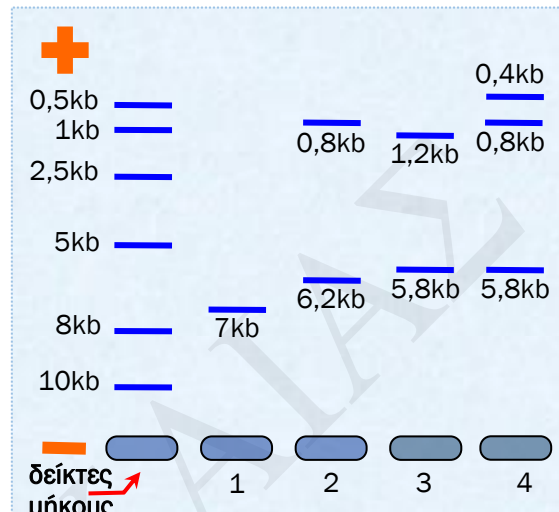
Εικόνα 4

Μονάδες 7

21. ☞ Διαθέτουμε ένα γραμμικό μόριο DNA, το οποίο διαθέτει μία θέση αναγνώρισης για την περιοριστική ενδονουκλεάση HindIII και μία για τη Sall. Επίσης διαθέτουμε τέσσερις δοκιμαστικούς σωλήνες, όπου στον πρώτο (1) το μόριο είναι άθικτο, στο δεύτερο (2) έχει επωαστεί με τη HindIII, στον τρίτο (3) έχει επωαστεί με τη Sall και στον τέταρτο (4) έχει επωαστεί και με τα δύο ένζυμα.

Το περιεχόμενο του κάθε δοκιμαστικού σωλήνα, το «τρέχουμε» στο πήκτωμα αγαρόζης με ηλεκτροφόρηση και παίρνουμε τα αποτελέσματα που φαίνονται στην παρακάτω εικόνα. Για παράδειγμα το άθικτο μόριο έχει μήκος 7kb, δηλαδή 7.000 ζεύγη βάσεων.

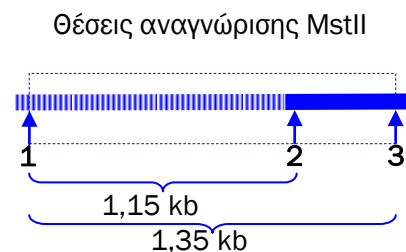
Με βάση το μήκος των θραυσμάτων, να προβλέψετε τις θέσεις των αλληλουχιών, που αναγνωρίζουν οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες HindIII και Sall, πάνω στο αρχικό μόριο DNA.



22. ☞ Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA, και συγκεκριμένα η δράση των περιοριστικών ενδονουκλεασών, βρίσκει πολλές εφαρμογές στη διάγνωση και στον προγεννητικό έλεγχο.

Η περιοριστική ενδονουκλεάση MstII αναγνωρίζει την αλληλουχία $5' \text{ CC} \blacktriangledown \text{TGAGG} 3'$ και $3' \text{ GGACT} \blacktriangle \text{CC} 5'$ και κόβει σε κάθε κλώνο, με κατεύθυνση $5' \rightarrow 3'$, μεταξύ C και T.

Η αλληλουχία αυτή υπάρχει τρεις φορές στο τμήμα του DNA που δίνεται ακολούθως και περιέχει και το φυσιολογικό γονίδιο της β πολυπεπτιδικής αλυσίδας (μαύρη μπάρα) της αιμοσφαιρίνης A, όπως φαίνεται και στο σχήμα:



Η θέση 2 περιέχει τα κωδικόνια CCT, GAG, GAG για τα αμινοξέα 5, 6, 7 της β πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

- α. Να προσδιορίσετε τον αριθμό των τμημάτων που θα προκύψουν από τη δράση της MstII:
- σε άτομο φυσιολογικό.
 - σε άτομο ετερόζυγο για τη δρεπανοκυτταρική αναιμία.
 - σε άτομο ομόζυγο για τη δρεπανοκυτταρική αναιμία.

- β. Να προσδιορίσετε το μήκος των τμημάτων σε kb που θα προκύψουν, από τη δράση της MstII, μόνο για το πλαίσιο με τη διακεκομμένη γραμμή:
- σε άτομο φυσιολογικό.
 - σε άτομο ετερόζυγο για τη δρεπανοκυτταρική αναιμία.
 - σε άτομο ομόζυγο για τη δρεπανοκυτταρική αναιμία.

23. ☞ Το μεταλλαγμένο γονίδιο, που κωδικοποιεί για την παθολογική πρωτεΐνη που σχετίζεται με την κυστική ίνωση, περιέχει μία θέση αναγνώρισης από την περιοριστική ενδονουκλεάση PstI, ενώ το φυσιολογικό γονίδιο δεν περιέχει. Το μήκος, τόσο του φυσιολογικού όσο και του μεταλλαγμένου γονιδίου, είναι 450 ζεύγη βάσεων (ζβ). Απομονώνουμε το γενετικό υλικό, από ένα διπλοειδές κύτταρο ενός υγιούς ατόμου, και κλωνοποιούμε με PCR επιλεκτικά τη γενετική θέση του γονιδίου. Εκτελούνται 7 κύκλοι αντιγραφής στην PCR και στη συνέχεια διακόπτουμε τη διαδικασία.

α. Πόσα αντίγραφα προέκυψαν;

Τα μόρια που προκύπτουν τα επωάζουμε με την περιοριστική ενδονουκλεάση PstI και τα θραύσματα τα «τρέχουμε» σε πήκτωμα (τζελ) αгарόζης (ηλεκτροφόρηση). Στο τζελ παρατηρούμε τρεις ζώνες:

- η πρώτη αντιστοιχεί σε τμήμα DNA μήκους 450ζβ,
- η δεύτερη σε τμήμα DNA μήκους 250ζβ και
- η τρίτη σε τμήμα DNA μήκους 200ζβ.

β. Πώς δικαιολογούνται οι τρεις αυτές ζώνες;

γ. Πόσα θραύσματα περιμένετε να υπάρχουν σε κάθε ζώνη;

24. ☞ ΠΔΒ Α '19

Στην εικόνα στο πλαίσιο υπάρχει ένας υποθετικός πολυμορφικός γενετικός τύπος στον άνθρωπο, ο ELS.

5' GAATCTCGACCTGCCACCGT ELS GTGGTGGCAGGTAAGCGTGA 3'
3' CTTAGAGCTGGACGGTGGCA CACCACCGTCCATTCGCACT 5'

Θέλετε να μελετήσετε την αλληλουχία αυτή χρησιμοποιώντας την τεχνική PCR. Στη διάθεση σας έχετε πολλά μόρια ενός μόνο πρωταρχικού τμήματος μήκους 10 νουκλεοτιδίων.

Να γράψετε την αλληλουχία του πρωταρχικού τμήματος με τα άκρα του.

40 ΓΕΛ ΝΙΚΑΙΑΣ