

**ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ 2023**
Α΄ ΦΑΣΗ**E_3.Bλ3Θ(α)**

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

Ημερομηνία: Πέμπτη 5 Ιανουαρίου 2023
Διάρκεια Εξέτασης: 3 ώρες

ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ**ΘΕΜΑ Α**

- A1. β
A2. δ
A3. β
A4 α. Σωστό

Η τρισδιάστατη δομή μιας πρωτεΐνης καθορίζει τη λειτουργικότητά της. Κατά την μετουσίωση μιας πρωτεΐνης (αλβουμίνη) σπάζουν οι δεσμοί που έχουν αναπτυχθεί μεταξύ των πλευρικών ομάδων R, καταστρέφεται η τρισδιάστατη δομή της και η πρωτεΐνη χάνει τη λειτουργικότητά της.

Οι πεπτιδικοί δεσμοί ανάμεσα στα αμινοξέα μιας πρωτεΐνης δεν επηρεάζονται κατά την μετουσίωση της.

- A5. α. Λ
β. Λ

- γ. Σ Ο γενετικός κώδικας είναι σχεδόν καθολικός. Όλοι οι οργανισμοί έχουν τον ίδιο γενετικό κώδικα. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι το mRNA από οποιονδήποτε οργανισμό μπορεί να μεταφραστεί σε εκχυλίσματα φυτικών, ζωικών ή βακτηριακών κυττάρων *in vitro* και να παραγάγει την ίδια πρωτεΐνη. Άρα, στην παραγωγή μιας ανθρώπινης πρωτεΐνης από βακτήρια, πράγματι βρίσκει εφαρμογή η ιδιότητα αυτή.

- δ. Λ

ΘΕΜΑ Β

B1. α) Στην περίπτωση Α το Χ είναι: Ενέργεια ενεργοποίησης χωρίς ένζυμο

Στην περίπτωση Β το Χ είναι: Ενέργεια ενεργοποίησης παρουσία ενζύμου

Σελ. 82 τεύχος Α «Για να πραγματοποιηθούν πολλές από τις χημικέςΟ μηχανισμός αυτός στηρίζεται στη δράση των ενζύμων»

β) Σελ. 84 τεύχος Α «Δε συμμετέχουν στην αντίδραση ... ώσπου να καταστραφούν»

B2. Το ένζυμο αυτό είναι η αντίστροφη μεταγραφάση που καταλύει τη διαδικασία της αντίστροφης μεταγραφής. Η διαδικασία αυτή έχει κατεύθυνση 5' προς 3'.

Προσανατολισμός δημιουργίας μιας πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας ... σελ.18

Στην αντίστροφη μεταγραφή η αλυσίδα - καλούπι είναι το mRNA το οποίο «διαβάζεται» από το 3' προς το 5' άκρο του και συντίθεται προΐον, δηλαδή η cDNA αλυσίδα, με κατεύθυνση 5' προς 3'. Έτσι, τα ζητούμενα βέλη είναι το β και το δ.

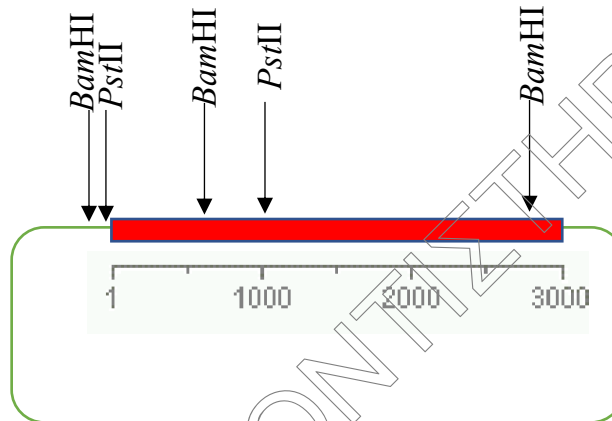
Ως σωστή απάντηση θα λαμβάνεται και το βέλος γ μόνο αν υπάρχει σωστή αιτιολόγηση και χωρίς να βαθμολογείται επιπλέον. Στην περίπτωση αυτή ο μαθητής θα πρέπει να αναφέρει ότι η αντίστροφη μεταγραφάση μπορεί να διαβάζει και καλούπι cDNA κατά τη δημιουργία της «φουρκέτας» πριν ολοκληρώσει τη λειτουργία της (σελ. 66 σχολικού βιβλίου).

B3. Ο τρόπος για να καθορίσουμε πού πρέπει να τοποθετηθεί η *Bam*HI θέση, είναι να κόψουμε το πλασμίδιο και με τα δύο ένζυμα *Pst* II και *Bam*HI, ταυτόχρονα. Αυτή η λεγόμενη διπλή πέψη δίνει τμήματα με 600, 1000 και 1200 ζ.β. συν το «μεγάλο τμήμα». Το τμήμα των 600 ζ.β. είναι το ίδιο με εκείνο που προέκυψε με μονή κοπή με *Bam*HI. Τα τμήματα των 1000 και 1200 ζ.β. μας υποδεικνύουν ότι η *Pst*II κόβει μέσα στο τμήμα 2200 που προέκυψε από τη μονή πέψη του πλασμιδίου με *Bam*HI. Ήδη γνωρίζουμε ότι η *Pst*II κόβει μέσα στο άγνωστο DNA και άρα τώρα μπορούμε να ορίσουμε την *Bam*HI θέση (Εικόνα 2).

Πιθανές θέσεις κοπής με βάση τα μεγέθη που δίνονται στην άσκηση.

Δεν ζητείται από τον μαθητή.

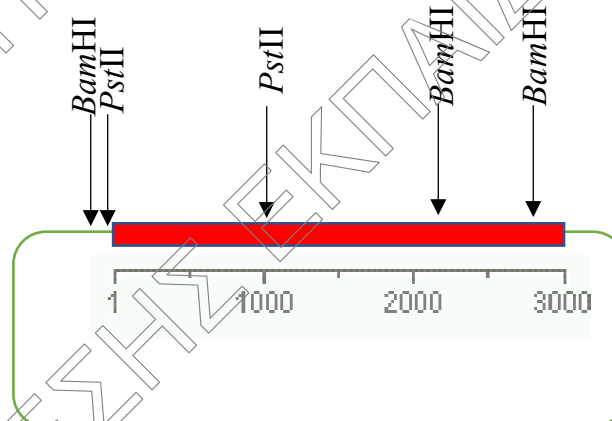
1^η Περίπτωση: Απορρίπτεται



Εικόνα 1

Δεν ζητείται από τον μαθητή

2^η Περίπτωση: Ισχύει



Εικόνα 2

B4.

- α) Μετά τον πρώτο διπλασιασμό θα έχει παραχθεί τόσο γενετικό υλικό όσο υπήρχε αρχικά, δηλαδή θα ενσωματωθούν 0,8 ng φωσφόρου, τα οποία θα αποτελούνται από ^{31}P και ^{32}P σε ίσες ποσότητες (θεωρούμε το θρεπτικό υλικό ομογενές διάλυμα και η κατανομή των ραδιενεργών και μη ραδιενεργών νουκλεοτιδίων, γίνεται τυχαία μεν, ισοπίθανα δε), αφού υπάρχει 50% ^{32}P στο περιβάλλον και

50% ^{31}P . Επομένως θα υπάρχουν στο γενετικό υλικό των κυττάρων που θα προκύψουν 1,6 ng φωσφόρου, εκ των οποίων τα 1,2 ng θα είναι ^{31}P και τα 0,4 ng ^{32}P .

- β) Μετά τον δεύτερο διπλασιασμό θα ενσωματωθούν επιπλέον 1,6 ng φωσφόρου, με 0,8 ng ^{31}P και 0,8 ng ^{32}P , οπότε τελικά στο γενετικό υλικό των κυττάρων που θα προκύψουν θα υπάρχουν 2,0 ng ^{31}P και 1,2 ng ^{32}P .

ΘΕΜΑ Γ

α.

Η σωστή διάδοχη βημάτων είναι:

- Απομόνωση πλασμιδίου από το φυσικό στέλεχος.
- Μετασχηματισμός υγρής καλλιέργειας *E. coli* ξενιστή.
- Επίστρωση της υγρής καλλιέργειας σε στερεό θρεπτικό υλικό παρουσία ριφαμπικίνης.
- Ανάπτυξη αποικιών *E. coli*.
- Λήψη κυττάρων των αποικιών και εμβολιασμός θρεπτικού υλικού κατάλληλου για *E. coli* και σε κατάλληλες συνθήκες.
- Απομόνωση πλασμιδίων από την τελευταία υγρή καλλιέργεια.

β.

Στάδια κύκλου	Διεργασία	Θερμοκρασία πραγματοποίησης
1 ^ο	Αποδιάταξη	95°C
2 ^ο	Υβριδισμός εκκινητών	60°C
3 ^ο	Επιμήκυνση	72°C

- γ. Το σωστό ζευγάρι εκκινητών είναι το AB. Η αντιγραφή του αρχικού κυκλικού μορίου (μορίων) οδηγεί σε γραμμικά μόρια, ελλείπει DNA δεσμάσης στα συστατικά της αντίδρασης PCR.
- δ. Όπως αναφέρθηκε στο υποερώτημα γ, τα προϊόντα PCR είναι γραμμικά και τα μόνα κυκλικά μόρια μπορεί να είναι τα αρχικά που τοποθετήθηκαν στην αντίδραση. Συνεπώς μετά την επίδραση της *EcoRI*, για την οποία το πλασμίδιο διαθέτει μοναδική θέση, τα προϊόντα PCR (ως γραμμικά) κόβονται σε μία θέση και προκύπτουν δύο θραύσματα ίσου μήκους (2.298 ζ.β.+ 4 αζευγάρωτα νουκλεοτίδια

ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ 2023
Α΄ ΦΑΣΗ

E_3.Βλ3Θ(α)

το καθένα). Στα προϊόντα της in vivo αντιγραφής, τα πλασμίδια αντιγράφονται in vivo εντός των κυττάρων και φυσικά είναι κυκλικά τα προϊόντα της αντιγραφής αυτής. Η επίδραση *EcoRI* οδηγεί σε ένα γραμμικό θραύσμα (4.596 ζ.β. που φέρει κολλώδη άκρα που αφήνει η *EcoRI*).

ε. in vivo: $2^{28} \times 2^2 = 2^{30}$.

in vitro: Το μέγιστο πλήθος των πλασμιδίων, στο τέλος της αντίδρασης PCR θα είναι 1024. Όλα τα υπόλοιπα αντίγραφα είναι γραμμικά μόρια.

ΘΕΜΑ Δ

Δ1.

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	K,A,E	-	-	-	-	-	-	-	-
1 και 4	-	K,A,E	K	K,E	-	-	K,E	-	-
1 και 6	-	-	-	-	K,E	K,E	-	K,E	K,A,E
3 και 2	-	K	K,E	K,A	-	-	K	-	-
3 και 4	-	-	-	-	K,A,E	K,E	-	K,E	K,E
3 και 6	-	-	-	-	K,E	K,E	-	K,E	K,A,E
5 και 2	-	K	K,E	K	-	-	K,A	-	-
5 και 4	-	-	-	-	K,E	K,E	-	K,A,E	K,E
5 και 6	-	-	-	-	K,E	K,E	-	K,E	K,A,E

Σημείωση: Στην περίπτωση που χρησιμοποιηθούν οι Π. Ε. 1 & 2 τόσο για το φορέα όσο και για το γονίδιο δεν μπορούν να επιτευχθούν και οι τρεις στόχοι ταυτόχρονα. Είτε θα μπορεί να κλωνοποιηθεί με ταυτόχρονη έκφρασή του και δεν θα μπορεί να απομονωθεί, είτε θα μπορεί να απομονωθεί αλλά δεν θα μπορεί να εκφραστεί. Σωστή όμως απάντηση θεωρείται το K,A,E διότι σύμφωνα με την εκφώνηση δεν απαιτείται να πραγματοποιούνται ταυτόχρονα.

Δ2. Η ένθεση του γονιδίου στο φορέα κλωνοποίησης προϋποθέτει τη δημιουργία ίδιων αντίστοιχα μονόκλωνων άκρων, ώστε σε κατάλληλες συνθήκες να προκύπτει η συμπληρωματικότητα των βάσεων κατά τον ανασυνδυασμό. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες 2 και 3 αφήνουν διαφορετικά μονόκλινα άκρα. Αυτό σημαίνει ότι το μονόκλινο άκρο που δημιούργησε η περιοριστική ενδονουκλεάση 3 στο γονίδιο θα ανασυνδυαστεί με το αντίστοιχο άκρο στο φορέα κλωνοποίησης, ενώ το άκρο που δημιούργησε η 2 στο γονίδιο με το αντίστοιχο άκρο στο φορέα και μόνο. Για την απομόνωση θα πρέπει να ισχύει ότι μετά τον ανασυνδυασμό και τη δράση της DNA δεσμάσης θα πρέπει να δημιουργούνται εκ νέου οι αλληλουχίες αναγνώρισης των περιοριστικών ενδονουκλεασών και αυτό συμβαίνει στη συγκεκριμένη περίπτωση διότι χρησιμοποιούνται τα ίδια ένζυμα περιορισμού. Η έκφραση του γονιδίου όμως δεν επιτυγχάνεται λόγω του λανθασμένου προσανατολισμού που έχει ως προς τον υποκινητή.

Δ3. Η αδυναμία έκφρασης του γονιδίου σε ορισμένους βακτηριακούς κλώνους οφείλεται στον προσανατολισμό με τον οποίο έχει ανασυνδυαστεί το γονίδιο. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες 3, 4, 5 και 6 αφήνουν ίδια μονόκλινα άκρα μεταξύ τους και το ίδιο συμβαίνει και για τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες 1 και 2. Αν τόσο ο φορέας μετά την συνδυαστική πέψη, όσο και το γονίδιο έχουν ίδια μονόκλινα άκρα, θα μπορούσε να επιτευχθεί ανασυνδυασμός με δύο τρόπους εκ των οποίων μόνο ο ένας θα ήταν με σωστό προσανατολισμό της κατεύθυνσης μεταγραφής προς τον υποκινητή του φορέα. Η μοναδική περίπτωση να ανασυνδυάζεται με έναν τρόπο, είναι να υπάρχουν διαφορετικά μονόκλινα άκρα στο φορέα και αντίστοιχα στο γονίδιο όταν απομονώθηκε. Επίσης για να είναι δυνατή η εκ νέου απομόνωση του γονιδίου από το φορέα θα πρέπει μετά τον ανασυνδυασμό να δημιουργούνται εκ νέου, οι αλληλουχίες που αναγνωρίζουν οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες, άρα αυτές που χρησιμοποιήθηκαν και για τον ανασυνδυασμό του.

Με βάση τα παραπάνω ο μοναδικός ανασυνδυασμός που θα επέτρεπε την έκφραση σε κάθε περίπτωση είναι η χρήση των περιοριστικών ενδονουκλεασών 1 και 4