Νέο Φροντιστήριο

Τράπεζα Θεμάτων Γ Λυκείου

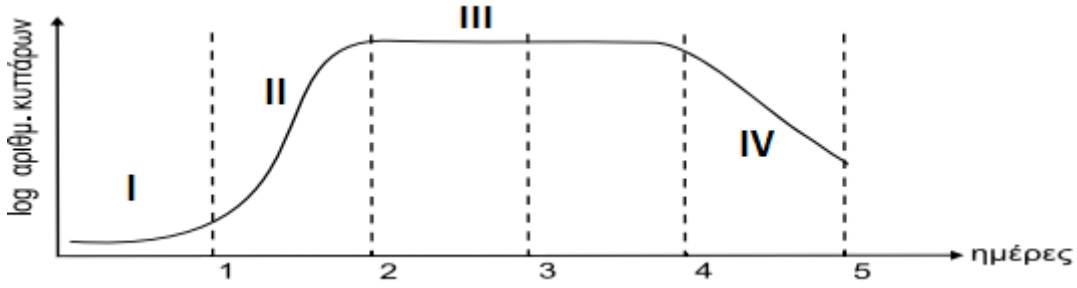
Βιολογία

Κεφάλαιο: 7 Αρχές και μεθοδολογία της Βιοτεχνολογίας

Θέμα 4

ΘΕΜΑ 4

4.1 Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης που επιτελείται σε ένα βιοαντιδραστήρα, τοποθετείται σε αυτόν ορισμένη ποσότητα αποστειρωμένου θρεπτικού υλικού, η οποία εμβολιάζεται με αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών. Η καλλιέργεια συνεχίζεται μέχρι την παραγωγή του επιθυμητού προϊόντος. Στην παρακάτω γραφική παράσταση απεικονίζεται η καμπύλη ανάπτυξης ενός μικροοργανισμού μέσα σε έναν βιοαντιδραστήρα.



α. Να χαρακτηρίσετε τον τύπο της καλλιέργειας με βάση τη γραφική παράσταση (μονάδες 2) και να ονομάσετε τις φάσεις ανάπτυξης I, II, III, IV του συγκεκριμένου μικροοργανισμού (μονάδες 4).

β. Τα προϊόντα μιας καλλιέργειας είναι είτε τα ίδια τα κύτταρα που ονομάζονται βιομάζα είτε προϊόντα των κυττάρων (όπως οι πρωτεΐνες και τα αντιβιοτικά). Αν στη συγκεκριμένη καλλιέργεια ο μικροοργανισμός παράγει ένα αντιβιοτικό, όταν βρίσκεται σε αντίξοες συνθήκες ανάπτυξης, να εξηγήσετε σε ποια ή ποιες φάσεις της καλλιέργειας αναμένουμε να πάρουμε μεγαλύτερη συγκέντρωση του αντιβιοτικού, αιτιολογώντας ταυτόχρονα γιατί επιλέγουμε τον συγκεκριμένο τύπο καλλιέργειας για να παραλάβουμε αυτό το προϊόν (μονάδες 6).

Μονάδες 12

4.2 Σήμερα γνωρίζουμε ότι στη δρεπανοκυτταρική αναιμία, υπάρχει γονιδιακή αντικατάσταση βάσης στο 7ο κωδικόνιο του φυσιολογικού γονιδίου της β αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης HbA των ενηλίκων, η οποία οδηγεί σε αλλαγή αμινοξέος στην 6η θέση της παραγόμενης πεπτιδικής β αλυσίδας. Παρακάτω δίνεται τμήμα από το πρώτο εξώνιο του γονιδίου που κωδικοποιεί τη β-αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης HbA δύο διαφορετικών αλληλομόρφων, του β1 και β2 (το ένα είναι φυσιολογικό και το άλλο μεταλλαγμένο και υπεύθυνο για δρεπανοκυτταρική αναιμία).

νέο φροντιστήριο

Αλληλόμορφο γονίδιο β1	AAAAAAATGGTGCACCTTACGCCAGAGGAG TTTTTTTACCACGTGGAATGCGGTCTCCTC
Αλληλόμορφο γονίδιο β2	AAAAAAATGGTGCACCTTACGCCAGTGGAG TTTTTTTACCACGTGGAATGCGGTCACCTC

α. Ποιο από τα δύο αλληλόμορφα γονίδια πιστεύετε ότι είναι το φυσιολογικό και ποιο το μεταλλαγμένο (μονάδες 2); Να δικαιολογήσετε την απάντηση σας (μονάδες 4).

β. Ένα άτομο πάσχει από σύνδρομο Klinefelter και ταυτόχρονα εμφανίζει δρεπανοκυτταρική αναιμία και μερική αχρωματοψία στο πράσινο και κόκκινο χρώμα. Να προσδιορίσετε, αιτιολογώντας την απάντησή σας, τον αριθμό των φυσιολογικών και των μεταλλαγμένων αλληλομόρφων γονιδίων που φέρει το άτομο αυτό σε κάθε σωματικό του κύτταρο, κατά την πρόφαση της μίτωσης, ως προς τις δύο ασθένειες που αναφέρονται (μονάδες 7).

Μονάδες 13

νέο φροντιστήριο

4.1

α. Πρόκειται για κλειστή καλλιέργεια μικροοργανισμών.

I = λανθάνουσα φάση, II = εκθετική φάση, III = στατική φάση, IV = φάση θανάτου

β. Οι μικροοργανισμοί παράγουν, συνήθως, χρήσιμα προϊόντα κατά τη διάρκεια της εκθετικής και της στατικής φάσης ανάπτυξής τους. Εφόσον, όμως, ο συγκεκριμένος μικροοργανισμός παράγει το αντιβιοτικό, όταν βρίσκεται σε αντίξοες συνθήκες, αναμένουμε να πάρουμε μεγάλη συγκέντρωση από αυτό το προϊόν κατά την στατική φάση ανάπτυξής του (ή ακόμη και κατά τη φάση θανάτου). Αυτός είναι και ο λόγος που επιλέγουμε το συγκεκριμένο τύπο καλλιέργειας για να πάρουμε το αντιβιοτικό σε μεγάλη συγκέντρωση.

4.2

α. Το αλληλόμορφο γονίδιο β1 είναι το φυσιολογικό ενώ το αλληλόμορφο γονίδιο β2 είναι το μεταλλαγμένο. Στο αλληλόμορφο β1 το 7ο κωδικόνιο, στην κωδική αλυσίδα είναι GAG, ενώ στο αλληλόμορφο β2 το 7ο κωδικόνιο, στην κωδική αλυσίδα είναι GTG.

Αλληλόμορφο γονίδιο β1

AAAAAAATGGTGCACCTTACGCCAGAGGAG
TTTTTTTACCACGTGGAATGCGGTCTCCTC

Αλληλόμορφο γονίδιο β2

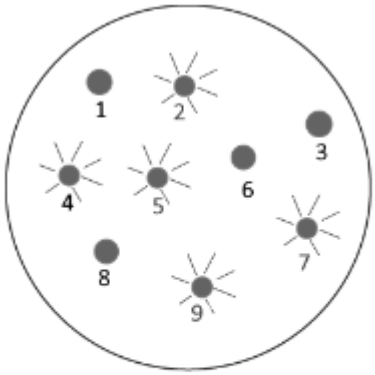
AAAAAAATGGTGCACCTTACGCCAGTGGAG
TTTTTTTACCACGTGGAATGCGGTCACCTC

β. Το άτομο που πάσχει από δρεπανοκυτταρική αναιμία έχει γονότυπο b^sb^s, όπου b^s το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο για δρεπανοκυτταρική αναιμία. Συνεπώς, ο αριθμός των μεταλλαγμένων αλληλομόρφων γονιδίων b^s (β2) για την δρεπανοκυτταρική αναιμία είναι 2 στα σωματικά κύτταρά του στην αρχή της μεσόφασης, ενώ δεν έχει κανένα φυσιολογικό Β αλληλόμορφο (β1). Τα άτομα με σύνδρομο Klinefelter έχουν φυσιολογικό αριθμό αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων (44) και τρία φυλετικά χρωμοσώματα, τα XXY, αντί του φυσιολογικού ζεύγους XY. Άρα, ως προς μερική αχρωματοψία στο πράσινο και κόκκινο χρώμα έχει γονότυπο $X^{\delta}X^{\delta}Y$ όπου X^{δ} το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο για μερική αχρωματοψία, το οποίο είναι φυλοσύνδετο. Άρα στην αρχή της πρόφασης της μίτωσης, που έχει ήδη πραγματοποιηθεί η αντιγραφή του γενετικού υλικού, το άτομο θα έχει 4 μεταλλαγμένα αλληλόμορφα b^s (β2) και 4 αλληλόμορφα X^{δ}, ενώ δεν διαθέτει κανένα φυσιολογικό αλληλόμορφο β1 ή X^{Δ} .

ΑΠΑΝΤΗΣΗ
νεο φροντιστηριο

ΘΕΜΑ 4

4.1 Για τη κλωνοποίηση ενός γονιδίου που κωδικοποιεί ένα ανθρώπινο ένζυμο, οι ερευνητές χρησιμοποιούν ως φορέα κλωνοποίησης το πλασμίδιο της εικόνας, το οποίο διαθέτει γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό αμπικιλίνη και το γονίδιο GFP (green fluorescent protein) εντός του οποίου υπάρχει η αλληλουχία αναγνώρισης της *Eco*RI, την οποία χρησιμοποιούν ως περιοριστική ενδονουκλεάση. Το γονίδιο της GFP παράγει μια πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη, η οποία εκπέμπει πράσινο φθορισμό όταν εκτεθεί σε υπεριώδη ακτινοβολία. Ως βακτήρια – ξενιστές χρησιμοποιούνται βακτήρια *Escherichia coli*, που δεν φέρουν πλασμίδια και είναι ευαίσθητα στην αμπικιλίνη. Μετά τη διαδικασία μετασχηματισμού των βακτηρίων-ξενιστών, τα βακτήρια μεταφέρονται σε στερεό θρεπτικό υλικό που περιέχει το αντιβιοτικό αμπικιλίνη και μετά από κάποιες μέρες εμφανίζονται 9 αποικίες. Με τη χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας, οι ερευνητές παρατηρούν ότι οι αποικίες 2, 4, 5, 7 και 9 εκπέμπουν πράσινο φθορισμό, όπως φαίνεται στην εικόνα.



αποικίες βακτηρίων σε θρεπτικό υλικό που περιέχει αμπικιλίνη

α. Να αναφέρετε επιγραμματικά τι περιείχε το στερεό θρεπτικό υλικό της καλλιέργειας προκειμένου να πολλαπλασιάζονται τα βακτήρια σε αυτό (μονάδες 4) και να αναφέρετε ποια θερμοκρασία είχε ο κλίβανος στον οποίο τοποθετήθηκαν οι καλλιέργειες στη συνέχεια (μονάδες 2).

β. Να εξηγήσετε αν οι αποικίες 1 – 9 περιλαμβάνουν μετασχηματισμένα ή μη μετασχηματισμένα βακτήρια (μονάδες 3). Να βρείτε ποιες από τις αποικίες 1 – 9 περιέχουν βακτήρια που μετασχηματίστηκαν με πλασμίδιο που έφερε το γονίδιο του ανθρώπινου ενζύμου, αιτιολογώντας την απάντησή σας (μονάδες 3).

Μονάδες 12

νέο φροντιστήριο

4.2 Η παρακάτω αλληλουχία νουκλεοτιδίων DNA περιλαμβάνει ένα γονίδιο που κωδικοποιεί ένα μικρό πεπτίδιο. Το πεπτίδιο αυτό λειτουργεί ως ένζυμο που καταλύει μία ειδική αντίδραση του μεταβολισμού σε ανθρώπινα μυϊκά κύτταρα.

I C T G A T A T G T A C T G C C C A T C G A C A C A G A A A T T C T G A C G II

III G A C T AT A C A T G A C G G G T A G C T G T G T C T T T A A G A C T GC IV

Τα t-RNA που χρησιμοποιήθηκαν κατά σειρά στη μετάφραση του mRNA για την παραγωγή του πεπτιδίου, είχαν τα αντικωδικόνια:

3΄ UAC 5΄, 3΄AUG 5΄, 3΄ACC 5΄, 3΄UGU 5΄, 3΄GUC 5΄, 3΄UUU 5΄, 3΄AAG 5΄.

α. Να εξηγήσετε ποια αλυσίδα, η πάνω ή η κάτω, είναι η κωδική αλυσίδα του γονιδίου (μονάδες 4) και να αντιστοιχίσετε τις θέσεις I, II, III και IV στα 3΄ και 5΄ άκρα των πολυνουκλεοτιδικών αλυσίδων (μονάδες 2).

β. Να γράψετε την αλληλουχία του mRNA που εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα των μυϊκών κυττάρων στα οποία εκφράζεται το γονίδιο αυτό (μονάδες 3).

γ. Να εξηγήσετε, αν για τη βιοτεχνολογική παραγωγή του πεπτιδίου από μετασχηματισμένα βακτήρια, θα χρησιμοποιήσουμε αντίγραφα του γονιδίου από γονιδιωματική ή cDNA βιβλιοθήκη (μονάδες 4).

Μονάδες 13

νέο φροντιστήριο

4.1

α. Το τεχνητό θρεπτικό υλικό της καλλιέργειας περιείχε πηγή άνθρακα, πηγή αζώτου και μεταλλικά ιόντα διαλυμένα στο νερό. Το θρεπτικό υλικό στερεοποιήθηκε με τη χρήση του πολυσακχαρίτη άγαρ. (Επίσης, στο θρεπτικό υλικό προστέθηκε το αντιβιοτικό αμπικιλίνη για την επιλογή των μετασχηματισμένων βακτηρίων). Μετά τον εμβολιασμό με τα βακτήρια, η καλλιέργεια τοποθετήθηκε στους 37°C, θερμοκρασία στην οποία αναπτύσσονται άριστα τα βακτήρια αυτά.

β. Όλες οι αποικίες 1 – 9 περιλαμβάνουν μετασχηματισμένα βακτήρια. Τα βακτήρια που δεν μετασχηματίστηκαν, δηλαδή δεν προσέλαβαν πλασμίδιο, είναι ευαίσθητα στην αμπικιλίνη και συνεπώς, δεν αναπτύχθηκαν παρουσία αυτού του αντιβιοτικού που υπήρχε στο θρεπτικό υλικό της καλλιέργειας. Όταν το γονίδιο του ανθρώπινου ενζύμου ενσωματώνεται μέσα στο γονίδιο GFP, το γονίδιο αυτό “απενεργοποιείται” με αποτέλεσμα να μην παράγεται η πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη. Άρα, όσα βακτήρια μετασχηματίστηκαν με αυτό το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο, εντοπίζονται στις αποικίες που δεν εκπέμπουν πράσινο φθορισμό, δηλαδή στις αποικίες 1, 3, 6 και 8.

4.2

α. Η σειρά των κωδικονίων του mRNA με τα οποία θα συνδεθούν τα tRNA κατά τη διαδικασία της μετάφρασης, είναι:

5΄AUG UAC UGG ACA CAG AAA UUC 3΄.

Συγκρίνοντας τις αλληλουχίες των δύο αλυσίδων και λαμβάνοντας υπόψη ότι το mRNA και η κωδική αλυσίδα του γονιδίου έχουν τον ίδιο προσανατολισμό και την ίδια αλληλουχία βάσεων (με τη διαφορά ότι το νουκλεοτίδιο της U στο mRNA είναι νουκλεοτίδιο της T στην κωδική αλυσίδα), εντοπίζουμε τα κωδικόνια στην πάνω αλυσίδα, τα οποία διακόπτονται από την αλληλουχία του εσωνίου 5΄ CCCATC 3΄. Συνεπώς, η αλυσίδα με άκρα I και II είναι η κωδική, με προσανατολισμό: I – 5΄, II – 3΄ και επειδή οι δύο αλυσίδες είναι αντιπαράλληλες, η αλυσίδα με άκρα III και IV είναι η μη κωδική με προσανατολισμό III – 3΄ και IV – 5΄.

β. Τα περισσότερα γονίδια των ευκαρυωτικών οργανισμών είναι ασυνεχή ή διακεκομμένα, με αποτέλεσμα από τη μεταγραφή τους να προκύπτει πρόδρομο mRNA, το οποίο υφίσταται διαδικασία ωρίμανσης και μετατρέπεται σε ώριμο πριν

εξέλθει από τον πυρήνα για να μεταφραστεί. Επομένως, το mRNA που εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα των μυϊκών κυττάρων στα οποία εκφράζεται το γονίδιο, θα είναι το ώριμο mRNA, η αλληλουχία του οποίου θα είναι:

5΄-CUGAU AUG UAC UGG ACA CAG AAA UUC UGA CG-3΄.

γ. Επειδή το ανθρώπινο γονίδιο είναι ασυνεχές και τα βακτήρια, ως προκαρυωτικοί οργανισμοί, δεν διαθέτουν αντίστοιχους μηχανισμούς ωρίμανσης του πρόδρομου mRNA, θα χρησιμοποιηθούν αντίγραφα του γονιδίου από cDNA βιβλιοθήκη.

ΑΠΑΝΤΗΣΗ
νέο φροντιστήριο

ΘΕΜΑ 4

4.1 Το Danio rerio (ζεβρόψαρο) είναι ένα τροπικό ψάρι που εντοπίστηκε και περιγράφηκε για πρώτη φορά στον ποταμό Γάγγη της Ινδίας. Αποτελεί έναν δημοφιλή, πρότυπο πειραματικό οργανισμό, λόγω του μεγάλου αριθμού των πλεονεκτημάτων που διαθέτει για γενετική, αναπτυξιακή και περιβαλλοντική έρευνα. Σε έναν μεταφασικό κύτταρο του οργανισμού το γονιδίωμα αντιστοιχεί σε 50 χρωμοσώματα. Επίσης, μεταξύ των κυττάρων του οργανισμού εντοπίστηκαν κύτταρα με διαφορετική ποσότητα γενετικού υλικού όπως παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

ΚΥΤΤΑΡΑ	Ποσότητα γενετικού υλικού (pg DNA)
1	9,2
2	2,3
3	4,6
4	2,8

α. Να εξηγήσετε γιατί υπάρχουν οι διαφορές αυτές στο μέγεθος του γονιδιώματος των τριών πρώτων κυττάρων (1-3) (μονάδες 6).

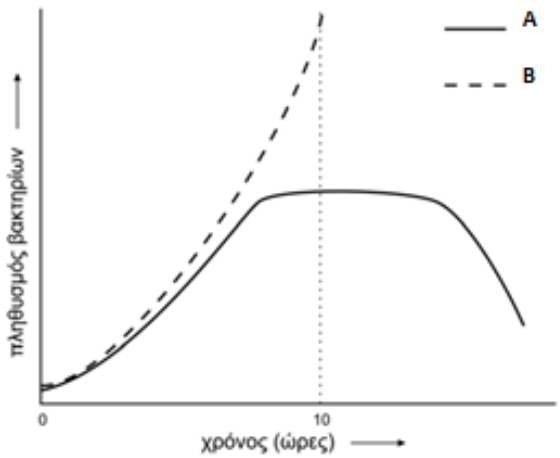
β. Η ποσότητα του γενετικού υλικού που είναι ίση με 2,3 μg σε ποιον αριθμό χρωμοσωμάτων θεωρείτε ότι αντιστοιχεί (μονάδα 1); Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 2).

γ. Το κύτταρο 4 πιστεύετε ότι είναι ένα φυσιολογικό κύτταρο του ψαριού (μονάδα 1); Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 2).

Μονάδες 12

4.2

Στο διάγραμμα του σχήματος απεικονίζεται η ανάπτυξη δύο καλλιεργειών Α (συνεχής γραμμή) και Β (στικτή γραμμή) του ίδιου μικροοργανισμού, με σκοπό την παραγωγή της ίδιας πρωτεΐνης, την οποία παράγουν όταν βρίσκονται σε εκθετική φάση ανάπτυξης. Οι καλλιέργειες αναπτύσσονται



σε ίδιο θρεπτικό υλικό και σε ίδιες συνθήκες θερμοκρασίας, pH και οξυγόνου, μέσα σε διαφορετικό βιοαντιδραστήρα.

α. Να αναγνωρίσετε τους τύπους καλλιέργειας Α και Β (μονάδες 2) και να δικαιολογήσετε την απάντηση σας (μονάδες 4).

β. Να εξηγήσετε σε ποια από τις δύο καλλιέργειες (Α ή Β) θα έχουμε περισσότερη ποσότητα παραγόμενης πρωτεΐνης στο χρονικό διάστημα 0 – 10 ώρες (μονάδες 2). Να δικαιολογήσετε, με βάση την προηγούμενη απάντηση, το είδος της καλλιέργειας που θα επιλέγατε να πραγματοποιήσετε σε βιοαντιδραστήρα, προκειμένου να παράξετε και να διαθέσετε στην αγορά ως φάρμακο, τη συγκεκριμένη πρωτεΐνη (μονάδες 5).

Μονάδες 13

νέο φροντιστήριο

4.1

α. Το 1ο κύτταρο είναι ένα φυσιολογικό σωματικό (διπλοειδές) κύτταρο (το γενετικό υλικό έχει διπλασιαστεί). Το 2ο κύτταρο είναι ένας γαμέτης (απλοειδές κύτταρο). Το 3ο κύτταρο είναι ένα φυσιολογικό σωματικό κύτταρο στην αρχή της μεσόφασης (το γενετικό υλικό δεν έχει διπλασιαστεί ακόμη).

β. Η ποσότητα του γενετικού υλικού 2,3 μg αντιστοιχεί σε 25 χρωμοσώματα εφόσον είναι ένας γαμέτης (απλοειδές κύτταρο). Γενικά, οι γαμέτες των ανώτερων οργανισμών, που είναι απλοειδείς, περιέχουν τη μισή ποσότητα DNA από τα σωματικά κύτταρα, που είναι διπλοειδή.

γ. Το κύτταρο 4 δεν είναι φυσιολογικό κύτταρο του ψαριού. Πρόκειται για έναν (ανευπλοειδή) γαμέτη που προέκυψε από λάθος ή λάθη (μη διαχωρισμό ή κάποια δομική χρωμοσωμική ανωμαλία) που έγιναν κατά την 1η ή 2η μειωτική διαίρεση ενός άωρου γεννητικού κυττάρου του οργανισμού.

4.2

α. Η καλλιέργεια Β είναι τύπος συνεχούς καλλιέργειας και η Α τύπος κλειστής καλλιέργειας. Στην πρώτη καλλιέργεια επειδή οι μικροοργανισμοί τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά συστατικά και ταυτόχρονα, απομακρύνονται από την καλλιέργεια κύτταρα και άχρηστα προϊόντα παρατηρείται παρατεταμένη εκθετική αύξηση μικροοργανισμών (και όχι στατική φάση ή και φάση θανάτου). Στην δεύτερη καλλιέργεια, όμως, οι μικροοργανισμοί δεν τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά συστατικά οπότε αυτά εξαντλούνται ή/και δεν απομακρύνονται από την καλλιέργεια άχρηστα προϊόντα με αποτέλεσμα να οδηγείται η καλλιέργεια σε στατική και, κατόπιν, σε φάση θανάτου.

β. Στην καλλιέργεια Β θα έχουμε περισσότερη ποσότητα παραγόμενης πρωτεΐνης στο χρονικό διάστημα 0 – 10 ώρες επειδή παρατηρείται μεγαλύτερος πληθυσμός μικροοργανισμών που την παράγουν από ορισμένη χρονική στιγμή και μετά. Μάλιστα, ο πληθυσμός των μικροβίων (και η ποσότητα της πρωτεΐνης) συνεχώς θα αυξάνεται και θα απομακρύνονται από τον βιοαντιδραστήρα ορισμένα κύτταρα και τα προϊόντα αυτών, προκειμένου να συνεχίζεται η καλλιέργεια (συνεχής καλλιέργεια). Με βάση την εκθετική αύξηση του πληθυσμού που παρατηρείται στη συνεχή καλλιέργεια, και την αντίστοιχη αύξηση της αντίστοιχα παραγόμενης πρωτεΐνης που θέλουμε να διατεθεί στην αγορά ως φαρμακευτική πρωτεΐνη,

ΑΠΑΝΤΗΣΗ

ο τύπος καλλιέργειας που επιλέγεται σε τέτοιες περιπτώσεις, δηλαδή όταν το προϊόν αυξάνεται ανάλογα με τον πληθυσμό των κυττάρων, είναι η συνεχής.

νέο φροντιστήριο