

**ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ 2025**
Β' ΦΑΣΗ**E_3.Βλ3Θ(α)**

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

Ημερομηνία: Τετάρτη 23 Απριλίου 2025
Διάρκεια Εξέτασης: 3 ώρες

ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ**ΘΕΜΑ Α**

- A1. δ
A2. γ
A3. δ
A4. γ
A5. δ

Μονάδες 25**ΘΕΜΑ Β**

B1. Η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το Σεπτέμβριο του 1990 σε ένα τετράχρονο κορίτσι που έπασχε από ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος εξαιτίας έλλειψης του ενζύμου της απαμινάσης της αδενοσίνης (ADA). Η διαδικασία που ακολουθήθηκε στη γονιδιακή θεραπεία της παραπάνω ασθένειας είναι η εξής:

- Λεμφοκύτταρα του παιδιού παραλαμβάνονται και πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργειες
- Το φυσιολογικό γονίδιο της απαμινάσης της αδενοσίνης ενσωματώνεται σε έναν ιό - φορέα, ο οποίος έχει καταστεί αβλαβής, με τις τεχνικές του ανασυνδυασμένου Dna
- Ο γενετικά τροποποιημένος ιός εισάγεται στα λεμφοκύτταρα
- Τα γενετικά τροποποιημένα λεμφοκύτταρα εισάγονται με ενδοφλέβια ένεση στο παιδί και παράγουν το ένζυμο ADA.
- Τα τροποποιημένα λεμφοκύτταρα δε ζουν για πάντα μέσα στον οργανισμό, δηλαδή η θεραπεία δεν είναι μόνιμη και χρειάζεται συνεχής έγχυση τέτοιων κυττάρων. Όμως, όπως στην περίπτωση των διαβητικών, τα άτομα μπορούν να ζουν φυσιολογικά, κάνοντας σε κανονικά χρονικά διαστήματα αυτή τη θεραπεία.

Αυτός ο τύπος της γονιδιακής θεραπείας ονομάζεται ex vivo.

Μονάδες 6

B2.

1. Σ
2. Σ
3. Λ
4. Σ
5. Σ
6. Λ

Μονάδες 6

B3. Παραδείγματα αποκλίσεων από τον κανόνα της ύπαρξης ενός πυρήνα ανά ευκαρυωτικό κύτταρο, σύμφωνα με το σχολικό βιβλίο, περιλαμβάνονται τα ανθρώπινα μυϊκά κύτταρα, τα οποία είναι πολύπυρρηνα, το πρωτόζωο *Paramecium* sp., το οποίο διαθέτει δύο πυρήνες – έναν μεγάλο (μακροπυρήνα) και έναν μικρό (μικροπυρήνα) – καθώς και τα ώριμα ανθρώπινα ερυθροκύτταρα, τα οποία στερούνται πυρήνα πλήρως

Μονάδες 6

B4. Μια πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα σχηματίζεται από την ένωση πολλών νουκλεοτιδίων με ομοιοπολικό δεσμό. Ο δεσμός αυτός δημιουργείται μεταξύ του υδροξυλίου του 3' άνθρακα της πεντόξης του πρώτου νουκλεοτιδίου και της φωσφορικής ομάδας που είναι συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόξης του επόμενου νουκλεοτιδίου. Ο δεσμός αυτός ονομάζεται 3' - 5' φωσφοδιεστερικός δεσμός.

Επομένως, το δίκλωνο DNA ενός ανθρώπινου γαμέτη αποτελείται συνολικά από περίπου 6×10^9 νουκλεοτίδια (3×10^9 ζεύγη βάσεων). Καθώς κάθε χρωμόσωμα αντιστοιχεί σε ένα μόριο δίκλωνου DNA, και σε κάθε κλώνο ο αριθμός των φωσφοδιεστερικών δεσμών είναι κατά ένα μικρότερος από τα νουκλεοτίδια, προκύπτει ότι ο συνολικός αριθμός φωσφοδιεστερικών δεσμών είναι:

$$6 \times 10^9 - (2 \times 23) = 6 \times 10^9 - 46$$

Δηλαδή, υπάρχουν περίπου 5.999.999.954 φωσφοδιεστερικοί δεσμοί στο DNA ενός ανθρώπινου γαμέτη.

Μονάδες 4

B5. Το μιτοχόνδριο, ως ημιαυτόνομο οργανίδιο με δικό του κυκλικό DNA, φέρει και εκφράζει γονίδια που είναι απαραίτητα για τη λειτουργία του. Τα είδη RNA που εντοπίζονται στο μιτοχονδριακό στρώμα (μήτρα) είναι:

**ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ 2025**
Β' ΦΑΣΗ**E_3.Βλ3Θ(α)**

1. Αγγελιαφόρο RNA (mRNA)
2. Μεταφορικά RNA (tRNA)
3. Ριβοσωμικά RNA (rRNA)

Μονάδες 3**ΘΕΜΑ Γ**

Γ1. Η ιχνηθέτηση είναι η μέθοδος κατά την οποία χρησιμοποιούνται ειδικά ιχνηθετικά μόρια (όπως ραδιενεργά ή φθορίζοντα μόρια) για να παρακολουθήσουμε τη διαδρομή ή τη συμπεριφορά άλλων ουσιών μέσα σε έναν οργανισμό ή σε ένα κύτταρο.

Πιο συγκεκριμένα είναι η σήμανση χημικών μορίων με τη χρήση ραδιενεργών ισοτόπων, φθορίζουσών ουσιών, κτλ. Ένα τυπικό παράδειγμα είναι η χρήση ραδιενεργού φωσφόρου ^{32}P στα νουκλεοτίδια για την ιχνηθέτηση του DNA.

Η ιχνηθέτηση βρίσκει εφαρμογή :

- Στα πειράματα των Hershey και Chase, με τα οποία επιβεβαιώθηκε οριστικά ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό, το οποίο μεταφέρεται από τον ιό στον ξενιστή και όχι οι πρωτεΐνες.
- Στη δημιουργία μορίων ανιχνευτών που χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA, οι ανιχνευτές είναι ιχνηθετημένα μονόκλωνα μόρια DNA ή RNA. Αυτά τα μόρια περιέχουν συμπληρωματικές αλληλουχίες προς μια συγκεκριμένη περιοχή του γονιδιώματος που θέλουμε να εντοπίσουμε. Οι ανιχνευτές αυτοί χρησιμοποιούνται για να εντοπίσουν συγκεκριμένα γονίδια ή αλληλουχίες σε γονιδιωματικές ή cDNA βιβλιοθήκες.

Μονάδες 6

Γ2. Η EcoRI είναι μία από τις πιο γνωστές περιοριστικές ενδονουκλεάσες, η οποία παράγεται από το βακτήριο *Escherichia coli* και ο φυσιολογικός της ρόλος είναι να το προστατεύουν από την εισβολή «ξένου» Dna. Το ένζυμο αυτό αναγνωρίζει την αλληλουχία 5' - GAATTC - 3' / 3' - CTTAAG - 5', στο γονιδίωμα και κόβει την κάθε αλυσίδα του DNA μεταξύ των νουκλεοτιδίων G και A, με κατεύθυνση 5' προς 3'.

Οι διαφοροποιήσεις στην εξέλιξη των δύο βακτηριακών αποικιών μπορούν να ερμηνευτούν με βάση τη δράση του ενζυμικού συστήματος περιορισμού-μεθυλίωσης (restriction-modification system), το οποίο αποτελεί έναν βασικό αμυντικό μηχανισμό των βακτηρίων απέναντι σε φάγους.

Συγκεκριμένα, το βακτήριο *Escherichia coli* μπορεί να παράγει ενδονουκλεάσες περιορισμού, όπως η EcoRI, οι οποίες αναγνωρίζουν και κόβουν συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA, π.χ. την αλληλουχία 5'-GAATTC-3'. Η ενζυματική αυτή δραστηριότητα οδηγεί στη διάσπαση του γονιδιώματος του φάγου, αποτρέποντας τον πολλαπλασιασμό του εντός του βακτηριακού κυττάρου.

Η συνέχιση της ανάπτυξης της αποικίας I υποδηλώνει ότι ο φάγος A περιέχει στο γονιδιώμα του την προαναφερθείσα ή άλλη αντίστοιχη αλληλουχία αναγνώρισης, με αποτέλεσμα η ενδονουκλεάση του βακτηρίου να τον καταστρέφει αποτελεσματικά. Αντιθέτως, η εκτεταμένη λύση που παρατηρείται στην αποικία II υποδηλώνει ότι ο φάγος B δεν διαθέτει τέτοια αλληλουχία στο γονιδιώμα του ή ότι διαθέτει μηχανισμούς προστασίας από τις ενδονουκλεάσες του ξενιστή (π.χ. τροποποιήσεις DNA, όπως μεθυλίωση ή πρωτεϊνική κάλυψη), γεγονός που του επιτρέπει να πολλαπλασιάζεται ανεμπόδιστα και να καταστρέφει τα βακτήρια.

Συνεπώς, οι παρατηρούμενες διαφοροποιήσεις σχετίζονται με τη μοριακή αλληλεπίδραση μεταξύ του γενετικού υλικού των φάγων και των περιοριστικών ενζύμων του βακτηρίου, καθώς και με την ικανότητα ή μη του βακτηρίου να αναγνωρίσει και να εξουδετερώσει τον ιικό DNA.

Με απλά λόγια, η διαφορά οφείλεται στο ότι ο ένας φάγος (A) δε σκοτώνει άμεσα τα βακτήρια, ενώ ο άλλος (B) τα καταστρέφει καθώς πολλαπλασιάζεται.

Στην υπό εξέταση άσκηση, η βακτηριακή αποικία I συνεχίζει να αναπτύσσεται, γεγονός που υποδηλώνει ότι είναι σε θέση να αντιμετωπίσει αποτελεσματικά τη μόλυνση από τον ιό A. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι το γονιδίωμα του ιού A περιέχει τη χαρακτηριστική αλληλουχία 5'-GAATTC-3' / 3'-CTTAAG-5', η οποία αναγνωρίζεται από την ενδονουκλεάση περιορισμού EcoRI, ένα ένζυμο που παράγεται από το συγκεκριμένο βακτήριο. Η EcoRI εντοπίζει και κόβει την παραπάνω αλληλουχία, οδηγώντας σε διάσπαση και καταστροφή του ιικού γονιδιώματος, προστατεύοντας έτσι το βακτήριο.

Αντιθέτως, ο ιός B δεν φέρει την παραπάνω αλληλουχία αναγνώρισης στο γενετικό του υλικό, με αποτέλεσμα η EcoRI να μην είναι σε θέση να δράσει. Κατά συνέπεια, το βακτήριο δεν μπορεί να ανακόψει τον πολλαπλασιασμό του ιού B, ο οποίος τελικά αναπαράγεται ανεμπόδιστα και προκαλεί τη λύση και καταστροφή της βακτηριακής αποικίας.

Συνοπτική εξήγηση των μηχανισμών

Αποικία	Τύπος Φάγου	Περιέχει GAATTC;	Δράση EcoRI	Αποτέλεσμα
I	Φάγος A	✓ Ναι	✓ Κοπή DNA	Επιβίωση και ανάπτυξη αποικίας
II	Φάγος B	✗ Όχι	✗ Δεν δρα	Λύση κυττάρων, καταστροφή

Μονάδες 7

Γ3. Οι ιντερφερόνες είναι αντικές πρωτεΐνες που παράγονται από ανθρώπινα κύτταρα όταν αυτά μολύνονται από ιούς. Για να παραχθούν ανθρώπινες ιντερφερόνες σε βακτήρια, είναι απαραίτητο να απομονώσουμε ανθρώπινα κύτταρα που έχουν ήδη μολυνθεί ή να τα μολύνουμε σε συνθήκες *in vitro* με ιούς, έτσι ώστε να ενεργοποιηθεί η έκφραση των γονιδίων που παράγουν τις ιντερφερόνες.

Ακολούθως, θα χρησιμοποιήσουμε ένα υποτονικό διάλυμα, το οποίο θα προκαλέσει τη διάσπαση των κυτταρικών μεμβρανών των κυττάρων που παράγουν τις ιντερφερόνες. Στη συνέχεια, θα εξάγουμε το συνολικό ώριμο mRNA από το κυτταρικό υγρό – εκχύλισμα.

Απαιτούνται τα ένζυμα αντίστροφη μεταγραφάση και DNA πολυμεράση, ώστε το mRNA του επιθυμητού γονιδίου να αντιγραφεί σε ένα δίκλωνο μόριο DNA, το οποίο θα περιέχει την κωδικοποιούσα περιοχή των γονιδίων που αντιστοιχούν στις επιθυμητές πρωτεΐνες.

Απαιτούνται πλασμίδια που διαθέτουν ειδική θέση αναγνώρισης για περιοριστική ενδονουκλεάση, εντοπισμένη εντός ενός γονιδίου ανθεκτικότητας σε κάποιο αντιβιοτικό. Παράλληλα, είναι απαραίτητη η ύπαρξη ενός δεύτερου γονιδίου ανθεκτικότητας σε διαφορετικό αντιβιοτικό, ώστε να είναι δυνατός ο έλεγχος του μετασχηματισμού. Επιπλέον, απαιτείται και η παρουσία του ενζύμου DNA δεσμάση, το οποίο θα καταλύσει τη σύνδεση μεταξύ του πλασμιδιακού και του εισαγόμενου DNA.

Για την επιτυχία του γενετικού μετασχηματισμού απαιτείται η χρήση κατάλληλων μετασχηματιστικών παραγόντων, μέσω των οποίων καθίσταται δυνατή η παροδική αύξηση της διαπερατότητας των βακτηριακών μεμβρανών σε μακρομοριακές ενώσεις, όπως το πλασμίδιο. Μετά τον μετασχηματισμό των βακτηρίων της υγρής καλλιέργειας, είναι απαραίτητη η καλλιέργειά τους σε δύο διαφορετικά στερεά θρεπτικά υποστρώματα, το καθένα εκ των οποίων περιέχει ένα από τα δύο αντιβιοτικά στα οποία ο φορέας κλωνοποίησης φέρει αντίστοιχα γονίδια ανθεκτικότητας. Με αυτόν τον τρόπο καθίσταται εφικτός ο διαχωρισμός των μετασχηματισμένων βακτηρίων που φέρουν το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο από τα μη μετασχηματισμένα κύτταρα της αρχικής καλλιέργειας.

Αφού εντοπιστεί η αποικία που φέρει το επιθυμητό ανασυνδυασμένο γενετικό υλικό, ακολουθεί η ανάπτυξη βακτηριακής καλλιέργειας σε βιοαντιδραστήρα με σκοπό την παραγωγή ιντερφερονών. Μετά την έκφραση και απομόνωση των πρωτεϊνών από το καλλιιεργητικό μέσο, ακολουθεί κατάλληλη *in vitro* επεξεργασία, ώστε να επιτευχθούν οι απαραίτητες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις που είναι αναγκαίες για τη σωστή δομή και λειτουργικότητα των παραγόμενων ιντερφερονών.

Ακολουθεί σε μορφή διαγράμματος ροής, ώστε να κατανοήσεις τη δομή και την αλληλουχία των βημάτων.

Παραγωγή Ανθρώπινων Ιντερφερονών σε Βακτήρια – Σχεδιάγραμμα 8 Βημάτων

1. Μόλυνση Ανθρώπινων Κυττάρων με Ιούς

 Σκοπός: Διέγερση της φυσικής παραγωγής ιντερφερονών
 →  (Ιός μολύνει κύτταρο)

2. Απομόνωση Ώριμου mRNA

 Δράση: Χρήση υποτονικού διαλύματος για λύση κυττάρων
  → εξαγωγή  mRNA από το κυτταρόπλασμα

3. Αντίστροφη Μεταγραφή σε DNA

 Εργαλεία: Αντίστροφη μεταγραφάση & DNA πολυμεράση
 mRNA →  cDNA →   δίκλωνο DNA (γονίδιο ιντερφερόνης)

4. Εισαγωγή σε Πλασμίδιο (Ανασυνδυασμένο DNA)

 Εργαλεία: Περιοριστική ενδονουκλεάση, DNA δεσμάση
 +  πλασμίδιο → ανασυνδυασμένο πλασμίδιο με γονίδιο + 2 γονίδια ανθεκτικότητας

✓ 5. Μετασχηματισμός Βακτηρίων

- ✚ Τεχνικές: Θερμικό σοκ, ηλεκτροδιάτρηση
- 🧫 Βακτήρια + ανασυνδυασμένο πλασμίδιο → μετασχηματισμένα κύτταρα

✓ 6. Επιλογή με Αντιβιοτικά

- ✚ Υποστρώματα: Περιέχουν 2 διαφορετικά αντιβιοτικά
- ✓ Επιβιώνουν μόνο τα βακτήρια με το σωστό πλασμίδιο

✓ 7. Καλλιέργεια σε Βιοαντιδραστήρα

- ✚ Παραγωγή ιντερφερονών σε μεγάλη κλίμακα
- 🧴 → 🏭 βιοαντιδραστήρας → πρωτεϊνική έκφραση

✓ 8. Απομόνωση & In Vitro Επεξεργασία

- ✚ Καθαρισμός & μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις
- 🧬 → 🎯 Λειτουργικές, ενεργές ιντερφερόνες

Συμπέρασμα:

Η επιτυχής παραγωγή ανθρώπινων ιντερφερονών σε προκαρυωτικά συστήματα βασίζεται στην ολοκληρωμένη αξιοποίηση εργαλείων γενετικής μηχανικής και βιοτεχνολογίας. Κάθε συστατικό – από την επιλογή του γονιδίου έως τον καθαρισμό της πρωτεΐνης – είναι κρίσιμο για την αποτελεσματική και βιολογικά δραστική έκφραση της ιντερφερόνης.

Μονάδες 12

**ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ 2025**
Β' ΦΑΣΗ**E_3.Βλ3Θ(α)****ΘΕΜΑ Δ****Δ1.****ΣΥΝΘΕΣΗ Β ΓΑΛΑΚΤΟΖΙΔΑΣΗΣ**

DNA ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ				ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΟ DNA				ΑΠΟΥΣΙΑ ΛΑΚΤΟΖΗΣ	ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΛΑΚΤΟΖΗΣ
-------------------	--	--	--	--------------------	--	--	--	---------------------	----------------------

1	P+	Y+	X+	Z+	P+	Y+	X+	Z+	Δεν παράγεται	Παράγεται
2	P+	Y+	X+	Z+	P+	Y+	X-	Z+	Παράγεται	Παράγεται
3	P+	Y+	X-	Z+	P+	Y+	X+	Z+	Παράγεται	Παράγεται
4	P+	Y+	X+	Z+	P-	Y+	X+	Z+	Δεν παράγεται	Παράγεται
5	P+	Y+	X+	Z-	P+	Y+	X-	Z+	Παράγεται	Παράγεται
6	P+	Y+	X+	Z+	P+	Y+	X-	Z-	Δεν παράγεται	Παράγεται
7	P+	Y+	X-	Z-	P+	Y+	X-	Z+	Παράγεται	Παράγεται
8	P-	Y+	X+	Z+	P+	Y+	X+	Z+	Δεν παράγεται	Παράγεται
9	P+	Y+	X*	Z+	P+	Y+	X+	Z-	Δεν παράγεται	Δεν παράγεται
10	P+	Y+	X+	Z-	P+	Y-	X+	Z+	Δεν παράγεται	Δεν παράγεται

1. Στο φυσιολογικό στέλεχος *E. coli*, το οπερόνιο της λακτόζης περιλαμβάνει όλα τα απαραίτητα στοιχεία για την παραγωγή της β-γαλακτοσιδάσης, η οποία διασπά τη λακτόζη.

- Απουσία λακτόζης:
Όταν δεν υπάρχει λακτόζη, το ρυθμιστικό γονίδιο παράγει τον καταστολέα, ο οποίος προσδένεται στον χειριστή και εμποδίζει την πρόσδεση της RNA πολυμεράσης στον υποκινητή. Αυτό αναστέλλει τη μεταγραφή του γονιδίου *lacZ*, με αποτέλεσμα να μην παράγεται β-γαλακτοσιδάση.
- Παρουσία λακτόζης:
Όταν η λακτόζη είναι παρούσα, δεσμεύεται στον καταστολέα και τον απενεργοποιεί. Αυτό επιτρέπει στην RNA πολυμεράση να προσδεθεί στον υποκινητή και να ξεκινήσει τη μεταγραφή του γονιδίου *lacZ*. Ως αποτέλεσμα, παράγεται β-γαλακτοσιδάση, η οποία διασπά τη λακτόζη.

2. Στο κύριο DNA του βακτηρίου, το οπερόνιο της λακτόζης είναι πάντα ενεργό, επειδή ο χειριστής δεν λειτουργεί σωστά και ο καταστολέας δεν μπορεί να προσδεθεί ποτέ. Έτσι, το οπερόνιο είναι πάντα σε κατάσταση επαγωγής, πράγμα που σημαίνει ότι η β-γαλακτοσιδάση παράγεται συνεχώς, ανεξαρτήτως αν υπάρχει λακτόζη ή όχι.

3. Στο πλασμίδιο, το οπερόνιο της λακτόζης είναι πάντα ενεργό, καθώς ο χειριστής δεν λειτουργεί σωστά και ο καταστολέας δεν μπορεί ποτέ να το απενεργοποιήσει. Έτσι, το οπερόνιο του πλασμιδίου είναι συνεχώς σε κατάσταση επαγωγής, και η β-γαλακτοσιδάση παράγεται συνεχώς, ανεξάρτητα από την παρουσία ή απουσία λακτόζης.

4. Στο κύριο DNA, το ρυθμιστικό γονίδιο δεν λειτουργεί, με αποτέλεσμα να μην παράγεται καταστολέας. Αν υπήρχε μόνο αυτό το οπερόνιο, θα περιμέναμε να είναι συνεχώς ενεργό, άρα να παράγεται β-γαλακτοσιδάση ακόμη και χωρίς λακτόζη.

Ωστόσο, το πλασμίδιο φέρει λειτουργικό οπερόνιο, συμπεριλαμβανομένου του ρυθμιστικού γονιδίου, το οποίο παράγει κανονικά καταστολέα. Ο καταστολέας που παράγεται στο κύτταρο κυκλοφορεί στο κυτταρόπλασμα και μπορεί να προσδεθεί σε οποιονδήποτε λειτουργικό χειριστή, είτε βρίσκεται στο πλασμίδιο είτε στο χρωμοσωμικό DNA.

Έτσι, ο καταστολέας του πλασμιδίου προσδένεται και στον χειριστή του κύριου DNA (αν αυτός είναι λειτουργικός), με αποτέλεσμα να καταστέλλει την έκφραση και των δύο οπερονίων σε απουσία λακτόζης.

- Απουσία λακτόζης: Ο καταστολέας είναι ενεργός και προσδένεται στους χειριστές → δεν παράγεται β-γαλακτοσιδάση.
- Παρουσία λακτόζης: Η λακτόζη προσδένεται στον καταστολέα και τον απενεργοποιεί → και τα δύο οπερόνια εκφράζονται → παράγεται β-γαλακτοσιδάση.

5. Στο πλασμίδιο, το πρώτο δομικό γονίδιο δεν λειτουργεί, με αποτέλεσμα να μην παράγεται β-γαλακτοσιδάση. Στο κύριο DNA, ο χειριστής δεν λειτουργεί σωστά, οπότε το οπερόνιο στο κύριο DNA δεν απενεργοποιείται ποτέ. Ως αποτέλεσμα, το οπερόνιο στο κύριο DNA είναι πάντα σε κατάσταση επαγωγής, και η β-γαλακτοσιδάση παράγεται συνεχώς.

6. Στο κύριο DNA, δεν λειτουργεί ούτε ο χειριστής ούτε το πρώτο δομικό γονίδιο, οπότε δεν παράγεται καθόλου β-γαλακτοσιδάση από αυτό το οπερόνιο.

Το οπερόνιο του πλασμιδίου είναι πλήρως λειτουργικό και ρυθμίζεται φυσιολογικά:

- Απουσία λακτόζης: ο καταστολέας προσδένεται στον χειριστή και αναστέλλει τη μεταγραφή, άρα δεν παράγεται β-γαλακτοσιδάση.

- Παρουσία λακτόξης: η λακτόξη απενεργοποιεί τον καταστολέα, ο οποίος απομακρύνεται από τον χειριστή, και το οπερόνιο ενεργοποιείται (επαγωγή). Έτσι, παράγεται β-γαλακτοσιδάση από το πλασμίδιο.

7. Κανένα από τα δύο οπερόνια (ούτε στο κύριο DNA ούτε στο πλασμίδιο) δεν διαθέτει λειτουργικό χειριστή. Αυτό σημαίνει ότι ο καταστολέας δεν μπορεί να προσδεθεί σε κανένα από τα δύο, και επομένως δεν απενεργοποιείται ποτέ η μεταγραφή. Ως αποτέλεσμα, η β-γαλακτοσιδάση παράγεται συνεχώς και από τα δύο οπερόνια, ανεξάρτητα από την παρουσία ή απουσία λακτόξης.

8. Στο πλασμίδιο, το ρυθμιστικό γονίδιο (*lacI*) δεν λειτουργεί, επομένως δεν παράγεται καταστολέας από αυτό. Αν υπήρχε μόνο αυτό το οπερόνιο, θα περιμέναμε να είναι πάντα ενεργό, αφού τίποτα δε θα μπορούσε να αναστείλει τη μεταγραφή του.

Ωστόσο, το οπερόνιο στο κύριο DNA είναι πλήρως λειτουργικό, συμπεριλαμβανομένου του ρυθμιστικού γονιδίου, που παράγει κανονικά τον καταστολέα. Ο καταστολέας αυτός διαχέεται στο κύτταρο και προσδένεται σε κάθε λειτουργικό χειριστή, είτε ανήκει στο κύριο DNA είτε στο πλασμίδιο.

- ➤ Απουσία λακτόξης: Ο καταστολέας είναι ενεργός και προσδένεται στους χειριστές και των δύο οπερονίων → η μεταγραφή εμποδίζεται → δεν παράγεται β-γαλακτοσιδάση.
- ➤ Παρουσία λακτόξης: Η λακτόξη απενεργοποιεί τον καταστολέα → η RNA πολυμεράση προσδένεται στους υποκινητές → παράγεται β-γαλακτοσιδάση.

✦ **Συμπέρασμα:** Αν και το πλασμίδιο δεν παράγει καταστολέα, το κύτταρο ρυθμίζει φυσιολογικά τη λειτουργία και των δύο οπερονίων μέσω του καταστολέα που προέρχεται από το κύριο DNA. Άρα, η έκφραση της β-γαλακτοσιδάσης ελέγχεται σωστά: καταστέλλεται χωρίς λακτόξη και ενεργοποιείται με λακτόξη.

9. Στο κύριο DNA, το γονίδιο για την β-γαλακτοσιδάση δεν λειτουργεί. Στο πλασμίδιο, ο καταστολέας είναι πάντα προσκολλημένος στον χειριστή (X^*), εμποδίζοντας τη μεταγραφή του γονιδίου *lacZ*. Έτσι, η β-γαλακτοσιδάση δεν παράγεται ποτέ, ανεξάρτητα από την παρουσία ή απουσία λακτόξης.

10. Στο κύριο DNA, ο υποκινητής δεν λειτουργεί σωστά, με αποτέλεσμα να μην παράγεται β-γαλακτοσιδάση. Στο πλασμίδιο, το γονίδιο για τη β-γαλακτοσιδάση δεν εκφράζεται, άρα δεν παράγεται ποτέ β-γαλακτοσιδάση, ανεξάρτητα από την παρουσία ή απουσία λακτόξης.

Μονάδες 20

Λ2.

1. Το πολυσώμα είναι σύμπλοκο που σχηματίζεται όταν πολλά ριβοσώματα προσδένονται ταυτόχρονα στο ίδιο μόριο mRNA και το μεταφράζουν ταυτόχρονα.

Στο οπερόνιο της λακτόζης, αυτό επιτρέπει την ταυτόχρονη μετάφραση των γονιδίων Z, Y και A σε πολλές πρωτεΐνες, γρήγορα και αποδοτικά.

2. Πολυσώματα σχηματίζονται μόνο παρουσία λακτόζης.

Χωρίς λακτόζη, ο καταστολέας παραμένει προσδεδεμένος στον χειριστή και δεν γίνεται μεταγραφή, άρα δεν υπάρχει mRNA → δεν σχηματίζεται πολυσώμα.

Με παρουσία λακτόζης, ο καταστολέας απενεργοποιείται → μεταγραφή → mRNA → πολλά ριβοσώματα προσδένονται → πολυσώμα.

3. Πλεονεκτήματα πολυσωμάτων:

- Ταυτόχρονη παραγωγή πολλών αντιγράφων πρωτεϊνών Z, Y και A από ένα mRNA, γρήγορη απόκριση σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα (όπως η παρουσία λακτόζης).
- Ενεργειακή οικονομία, αφού δε χρειάζεται νέα μεταγραφή για κάθε πρωτεΐνη.

Η παραγωγή των πρωτεϊνών Z, Y και A αυξάνεται κατακόρυφα, γιατί κάθε ριβόσωμα μεταφράζει το ίδιο mRNA ανεξάρτητα, πολλαπλές φορές.

4. Αν υπάρχει μετάλλαξη στον υποκινητή (P^-) → η RNA πολυμεράση δεν μπορεί να ξεκινήσει μεταγραφή → δεν παράγεται mRNA → δεν σχηματίζεται κανένα πολυσώμα.

Αν ο χειριστής είναι φυσιολογικός (O^+) αλλά ο καταστολέας παραμένει μόνιμα προσδεδεμένος (π.χ. απουσία λακτόζης ή μετάλλαξη X^*) → το ίδιο: δεν έχουμε μεταγραφή, άρα όχι mRNA, όχι πολυσώμα.

Μονάδες 5