

ΘΕΜΑ 4

4.1 Η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το 1990, με μια διαδικασία που είναι γνωστή με τον όρο *ex vivo* για τη θεραπεία της έλλειψης του ενζύμου της απαμινάσης της αδενοσίνης (ADA) και έκτοτε, με τη χρήση της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA, εφαρμόζεται στη θεραπεία πολλών σοβαρών γενετικών ασθενειών όπως η κυστική ίνωση και διάφορες μορφές καρκίνου, αλλά ακόμη και στη θεραπεία του συνδρόμου επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS). Στα πλαίσια εφαρμογής *ex vivo* γονιδιακής θεραπείας θέλουμε να “παρέμβουμε” θεραπευτικά σε ευκαρυωτικά κύτταρα, εισάγοντας σε αυτά το επιθυμητό γονίδιο.

α. Να περιγράψετε τα βήματα της διαδικασίας εισαγωγής του επιθυμητού γονιδίου στα κύτταρα αυτά (μονάδες 4). Να αναφέρετε ένα παράδειγμα ασθένειας, όπου το παραπάνω πρωτόκολλο δεν θα μπορούσε να εφαρμοστεί και θα χρειαζόταν να καταφύγουμε σε *in vivo* εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας (μονάδες 2).

β. Να διερευνήσετε αν τα κύτταρα που θα προκύψουν από τις διαδοχικές διαιρέσεις των γενετικά τροποποιημένων κυττάρων σε κυτταροκαλλιέργεια θα συνεχίσουν να εκφράζουν το ενσωματωμένο γονίδιο (μονάδες 3). Μετά την εισαγωγή των τροποποιημένων κυττάρων στον ασθενή, να αναφέρετε αν περιμένουμε το νέο χαρακτηριστικό των κυττάρων αυτών να εμφανίζεται και στα αντίστοιχα κύτταρα των απογόνων του ατόμου, που θα υποστεί τη γονιδιακή θεραπεία (μονάδες 3).

Μονάδες 12

4.2 Μετά την ολοκλήρωση του προγράμματος αλληλούχισης του ανθρώπινου γονιδιώματος ολοένα και περισσότερα πρωτόκολλα αλληλούχισης DNA (προσδιορισμού της αλληλουχίας της πρωτοταγούς διάταξης) από διάφορα είδη κυττάρων και οργανισμών ή ακόμη και γενετικού υλικού από ιούς υλοποιούνται σε εργαστήρια Μοριακής Βιολογίας ανά τον κόσμο καθημερινά, στα πλαίσια μιας εργαστηριακής “ρουτίνας”. Από ένα αντίστοιχο πρωτόκολλο αλληλούχισης του γενετικού υλικού ενός στελέχους βακτηρίου προέκυψε και η παρακάτω αλληλουχία DNA.

PO₄--TTTCCAAATGAGTAAAAAAAACGTAAGTATGGGTT-- OH

α. Ξέροντας ότι το παραπάνω τμήμα DNA ανήκει σε ένα προκαρυωτικό γονίδιο, το οποίο κωδικοποιεί για πεπτίδιο, να εξηγήσετε αν η δοθείσα αλυσίδα είναι η κωδική ή η μη κωδική του γονιδίου και να γράψετε το mRNA που παράγεται από την μεταγραφή του

(μονάδες 4). Να υπολογίσετε τον αριθμό των αμινοξέων που θα συγκροτούν το παραγόμενο ολιγοπεπτίδιο μετά την μετάφραση του mRNA μορίου (μονάδες 2).

β. Τελικά βρέθηκε ότι το γονίδιο αυτό αποτελεί το μοναδικό γονίδιο ανθεκτικότητας ενός είδους πλασμιδίων, το οποίο προσδίδει αντοχή στο αντιβιοτικό αμπικιλίνη στα βακτήρια που το φέρουν. Ένας μεταπτυχιακός φοιτητής σκέφτεται να πραγματοποιήσει κατασκευή γονιδιωματικής βιβλιοθήκης ενός ιού, με τη χρήση των συγκεκριμένων πλασμιδίων, ως φορείς κλωνοποίησης, και να κόψει τόσο τους φορείς, όσο και το γονιδίωμα του ιού με την περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI. Ως ξενιστές θα χρησιμοποιήσει βακτήρια χωρίς ανθεκτικότητα στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό. Γνωρίζει ότι τα πλασμίδια κόβονται σε μία θέση από το ένζυμο αυτό, αλλά δεν γνωρίζει που βρίσκεται αυτή η θέση. Να εξηγήσετε αν θεωρείτε κατάλληλα αυτά τα πλασμίδια και να διερευνήσετε τυχόν πρόσθετες προϋποθέσεις που πρέπει να πληροί ένα πλασμίδιο για να θεωρηθεί κατάλληλο ως φορέας κλωνοποίησης (μονάδες 7).

Μονάδες 13