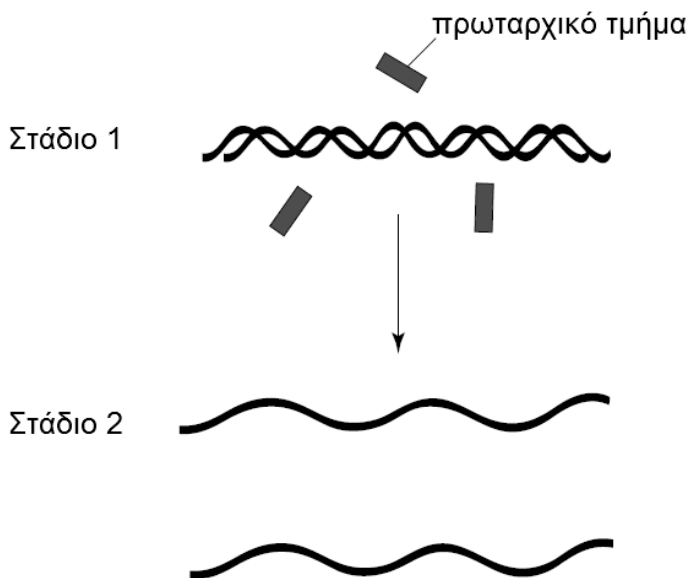


Οι τρεις ύποπτοι

Στον τόπο του εγκλήματος υπήρχαν τρεις ύποπτοι. Επιστήμονες του εγκληματολογικού τμήματος της Αστυνομίας πραγματοποίησαν τη μέθοδο **ανάλυσης αποτυπωμάτων DNA** (DNA fingerprinting) χρησιμοποιώντας πέντε δείγματα αίματος που συνέλεξαν στο σημείο της επίθεσης από:

- το θύμα,
- το σημείο της επίθεσης (διαφορετικό από αυτό του θύματος) και
- τους τρεις υπόπτους.

Ίχνη ποσότητας DNA μικρότερης του 1ng μπορούν να πολλαπλασιαστούν και έπειτα να εξεταστεί το προφίλ τους, ώστε να ταυτοποιηθεί ο δράστης του εγκλήματος. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιείται η μέθοδος της **αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR)** για την απομόνωση του DNA από τα προηγούμενα δείγματα αίματος. Ακολουθεί διάγραμμα που παρουσιάζει μέρος της μεθοδολογίας PCR.



1. Τι πρέπει να γίνει μεταξύ των σταδίων **1** και **2**, προκειμένου να αποχωριστούν μεταξύ τους οι αλυσίδες του μορίου DNA; Εξηγήστε.

2. Συμπληρώστε και βάλτε ενδείξεις για τις θέσεις των πρωταρχικών τμημάτων, σημειώνοντας κατάλληλα τον προσανατολισμό τους στο στάδιο **2** του διαγράμματος.

3. Εξηγήστε το ρόλο του ενζύμου **DNA πολυμεράση** στη διαδικασία της PCR.

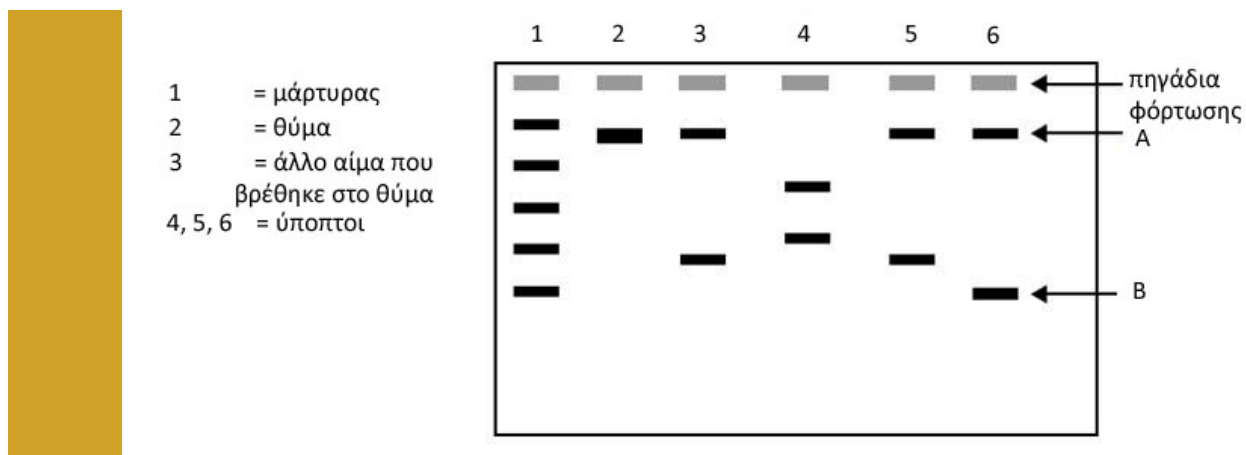
4. Πολλοί χαρακτηρίζουν την PCR ως διαδικασία *in vitro* αντιγραφής. Συμφωνείτε με την παραπάνω άποψη; Εξηγήστε.

Μικρά τμήματα DNA διαφορετικού μεγέθους μπορούν να συγκριθούν για να καθοριστεί εάν το εξεταζόμενο δείγμα προέρχεται ή όχι από ένα συγκεκριμένο άτομο. Μια από τις περιοχές του DNA που εξετάζεται στην εγκληματολογική ανάλυση είναι η **μικρή διαδοχικά επαναλαμβανόμενη αλληλουχία (short tandem repeat, STR)** 4 βάσεων, που ονομάζεται *HUMTHO1*. Η αλληλουχία αυτή, που χαρτογραφείται στο χρωμόσωμα 11, απαντάται σε πολλά αλληλόμορφα που διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το πλήθος των επαναλήψεων της αλληλουχίας AATG. Αυτή είναι η περιοχή του χρωμοσώματος 11 που πολλαπλασιάστηκε με την εφαρμογή της μεθόδου PCR, αφού προηγήθηκε κατεργασία των δειγμάτων DNA με περιοριστικές ενδονουκλεάσες.

Στη συνέχεια, τα δείγματα DNA φορτώθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης στα άκρα του οποίου εφαρμόζεται ηλεκτρικό πεδίο. Το DNA ως αρνητικά φορτισμένο μόριο μετακινείται προς την άνοδο, με τα μικρότερα κομμάτια να κινούνται γρηγορότερα και τα μεγαλύτερα αργότερα μέσα στο πορώδες πήκτωμα. Η συγκέντρωση της αγαρόζης καθορίζει το μέγεθος των πόρων, άρα και το μέγεθος των κομματιών DNA που μπορούν να διαχωριστούν. Η παραπάνω διαδικασία είναι γνωστή ως **ηλεκτροφόρηση DNA**.

5. Πού οφείλεται το αρνητικό ηλεκτρικό φορτίο του μορίου DNA;

Παρακάτω παρατίθεται διάγραμμα του πηκτώματος ηλεκτροφόρησης με τα εξεταζόμενα δείγματα DNA, αφού έχουν κινηθεί αρκετά, ώστε να διαχωριστούν τα τμήματα που προέκυψαν από την κατεργασία των δειγμάτων με τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες.



6. Να αναφέρετε δύο ιδιότητες των τμημάτων DNA που θα επιτρέψουν το διαχωρισμό τους κατά τη διάρκεια της ηλεκτροφόρησης.

7. Στο πηγάδι φόρτωσης της σειράς **1** τοποθετείται δείγμα DNA αποτελούμενο από τμήματα γνωστού μεγέθους (μάρτυρας). Τι σκοπό εξυπηρετεί η παρουσία του μάρτυρα;

8. Γιατί βλέπουμε μία μόνο μπάντα στη σειρά **2** και δύο μπάντες στις σειρές **3, 4, 5** και **6**;

9. Πόσα διαφορετικά αλληλόμορφα ως προς τη γενετική θέση *HUMTHO1* απαντώνται στο πήκτωμα αγαρόζης, με βάση την εικόνα των δειγμάτων των ατόμων **2**, **3**, **4**, **5** και **6**;

10. Ποιο τμήμα του DNA, το **A** ή το **B**, παρουσιάζει μεγαλύτερο αριθμό επαναλήψεων της αλληλουχίας AATG; Εξηγήστε.

11. Ποιος από τους υπόπτους φαίνεται ότι διέπραξε το έγκλημα; Εξηγήστε.

12. Σε ποια περαιτέρω ενέργεια θα συνιστούσατε στους επιστήμονες του εγκληματολογικού να προβούν για τη διαλεύκανση της υπόθεσης;