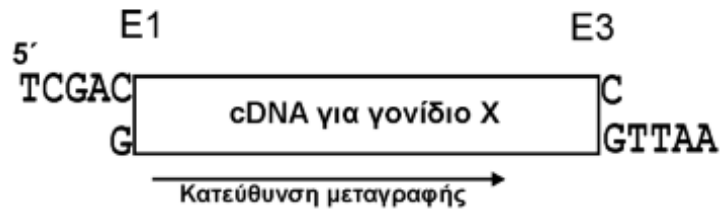


Έστω γονίδιο X (ασυνεχές) που κωδικοποιεί μια φαρμακευτική πρωτεΐνη η οποία εκφράζεται σε ένα ανθρώπινο κυτταρικό τύπο. Επιδιώκοντας την κλωνοποίηση του γονιδίου αυτού, συνθέτουμε το δίκλωνο cDNA του γονιδίου όπως φαίνεται στην **Εικόνα 2**. Το δίκλωνο cDNA φέρει στα άκρα του και εκτός των περιοχών του γονιδίου, θέσεις που αναγνωρίζουν δυο περιοριστικές ενδονουκλεάσες (E1 και E3), οι οποίες, όταν επιδράσουν στο δίκλωνο cDNA, αφήνουν τα μονόκλωνα άκρα που φαίνονται στην **Εικόνα 2**.



Εικόνα 2

Δ1. Ποιες είναι οι αλληλουχίες των 6 ζευγών βάσεων που αναγνωρίζει η κάθε μια από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες (E1 και E3) που χρησιμοποιήθηκαν;

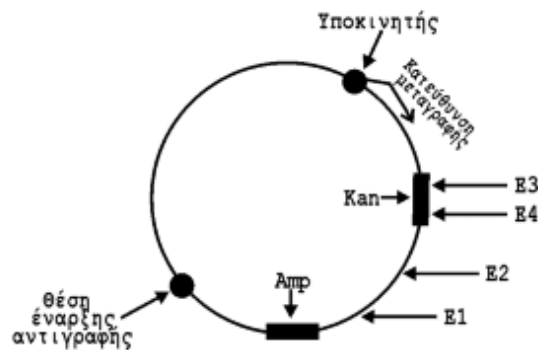
Μονάδες 6

Δ2. Ποια από τα παρακάτω δεν υπάρχουν στο cDNA του γονιδίου X;

1) υποκινητής 2) εξώνια 3) εσώνια 4) 5' αμετάφραστη περιοχή 5) 3' αμετάφραστη περιοχή.

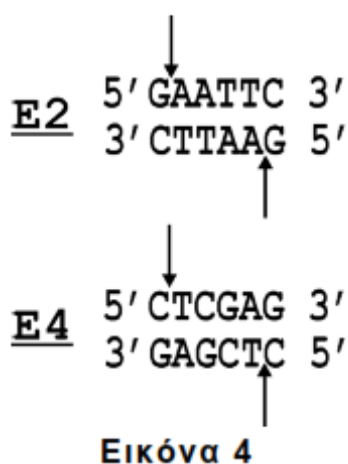
Μονάδες 4

Δ3. Θέλουμε να ενσωματώσουμε το cDNA του γονιδίου X στο πλασμίδιο της **Εικόνας 3**. Το πλασμίδιο περιέχει τις θέσεις που αναγνωρίζουν οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες E1, E2, E3 και E4. Στις θέσεις Amp και Kan του πλασμιδίου βρίσκονται τα γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά αμπικιλίνη και καναμυκίνη, αντίστοιχα.



Εικόνα 3

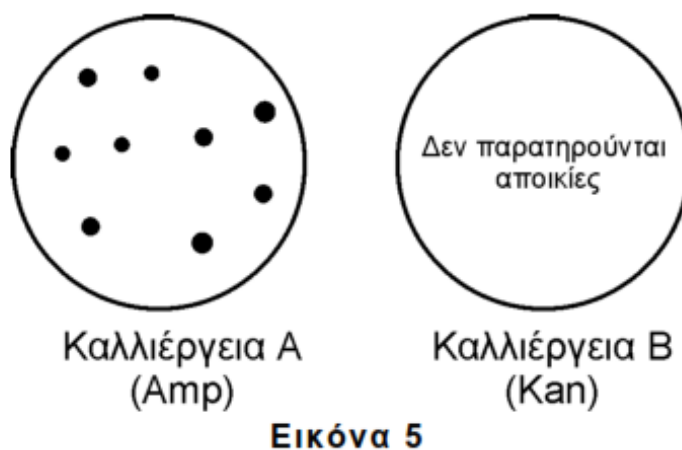
Στην **Εικόνα 4** που ακολουθεί απεικονίζονται οι ειδικές αλληλουχίες DNA που αναγνωρίζονται από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες E2 και E4 και με τα βέλη υποδηλώνονται οι θέσεις που κόβονται οι αλυσίδες.



Ποιο ή ποια ένζυμα θα χρησιμοποιήσουμε για να κόψουμε το πλασμίδιο έτσι ώστε να ενσωματώσει το DNA της **Εικόνας 2** και να επιτύχουμε την έκφραση του από τον υποκινητή του πλασμιδίου της **Εικόνας 3**; (μονάδες 4) Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας. (μονάδες 6)

Μονάδες 10

Δ4. Στη συνέχεια της διαδικασίας κλωνοποίησης του γονιδίου μετασχηματίζουμε κύτταρα του βακτηρίου *E. coli* (*Escherichia coli*). Τα μισά από αυτά τα κύτταρα καλλιεργούνται σε θρεπτικό υλικό που περιέχει το αντιβιοτικό αμπικιλίνη (**Εικόνα 5**, καλλιέργεια A) και τα άλλα μισά σε θρεπτικό υλικό που περιέχει το αντιβιοτικό καναμυκίνη (**Εικόνα 5**, καλλιέργεια B).



Εικόνα 5

Να εξηγήσετε τα αποτελέσματα της ανάπτυξης των καλλιεργειών A και B όπως αυτά απεικονίζονται στην **Εικόνα 5**.

Μονάδες 5