

A) Ερωτήσεις με πολλές πιθανές απαντήσεις

Να βάλετε σε κύκλο το γράμμα ή τα γράμματα που αντιστοιχούν στη σωστή φράση ή στη φράση που συμπληρώνει σωστά την πρόταση, αν υπάρχει.

1. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες
 - a) κόβουν τους φωσφοδιεστερικούς δεσμούς μεταξύ A και G.
 - b) ενώνουν τμήματα του ανασυνδυασμένου DNA.
 - c) κόβουν τις πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες του μορίου DNA σε ειδικές θέσεις.
 - d) διασπούν φωσφοδιεστερικούς δεσμούς.
 - e) διασπούν δεσμούς υδρογόνου.
 - f) Περιορίζουν τη μεταγραφή γονιδίων.

2. Το ένζυμο EcoRI κόβει την αλυσίδα του γονιδιώματος ενός κυττάρου έτσι...
 - a) ώστε να προκύψει ένα άνοιγμα στο γονιδίωμα, έτσι ώστε να ενσωματωθεί το πλασμίδιο.
 - b) ώστε χιλιάδες τμήματα DNA ίδιο μήκους να ενσωματωθούν σε πλασμίδιο φορέα.
 - c) ώστε ένα τμήμα DNA να ενσωματωθεί με το πλασμίδιο φορέα.
 - d) ώστε πολλά διαφορετικά τμήματα να μπορούν να συνδεθούν με το πλασμίδιο φορέα.
 - e) ώστε το γονιδίωμα να σχηματίζει μονόκλωνα άκρα, τα οποία να είναι συμπληρωματικά με τα μονοκλωνα άκρα του πλασμιδίου, εφόσον κόπηκαν με την ίδια νουκλεάση περιορισμού.
 - f) ώστε το μονόκλωνο άκρο που προεξέχει να έχει πάντα την αλληλουχία AATTC, διαβάζοντας από 3' → 5'.

3. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες έχουν την δυνατότητα να κόβουν
 - a) το πλασμίδιο στην κατάλληλη θέση.
 - b) το γονιδίωμα του ευκαρυωτικού κυττάρου σε κατάλληλη θέση.
 - c) το ανασυνδυασμένο DNA σε κατάλληλη θέση.
 - d) το DNA του οργανισμού από τον οποίο προήλθε στην κατάλληλη θέση.
 - e) Ένζυμα στην κατάλληλη θέση.
 - f) την DNA δεσμάση στην κατάλληλη θέση.

4. Το γονίδιο του πλασμιδίου που σχετίζεται με ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικό και εντοπίζεται στα πλασμίδια που χρησιμοποιούμε στην Γενετική μηχανική, εξυπηρετεί:
 - a) στην κλωνοποίηση των βακτηρίων στα οποία έχει εισαχθεί αυτό το ανασυνδυασμένο DNA.
 - b) στην αναπαραγωγή του ανασυνδυασμένου DNA με την μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR).
 - c) στην κλωνοποίηση των βακτηρίων που δε φέρουν το πλασμίδιο
 - d) στην καταστροφή των βακτηρίων στα οποία δεν έχει εισαχθεί το πλασμίδιο.
 - e) στην εισαγωγή τμήματος του γονιδιώματος στο πλασμίδιο
 - f) στην εισαγωγή του πλασμιδίου σε βκτήρια

5. Μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη περιέχει
 - a) αντίγραφα ενός μόνο ανασυνδυασμένου πλασμιδίου.
 - b) αντίγραφα του συνολικού γονιδιώματος ενός οργανισμού.
 - c) αντίγραφα μόνο των γονιδίων που μεταγράφονται σε έναν ιστό.
 - d) mRNA του δότη.
 - e) υβρίδια RNA-DNA.

6. Η γονιδιωματική βιβλιοθήκη διαφέρει από την cDNA βιβλιοθήκη του ίδιου οργανισμού στο ότι:
- η cDNA βιβλιοθήκη περιέχει μόνο τα DNA αντίγραφα ολικού RNA που παράγονται και εκφράζονται σε κάποιον κυτταρικό τύπο (ιστό) και γι' αυτό αποτελείται από μικρότερο αριθμό βακτηριακών κλώνων.
 - η cDNA βιβλιοθήκη δίνει την δυνατότητα παραγωγής σε βακτήρια.
 - η cDNA βιβλιοθήκη περιέχει μόνο τα εσώνια.
 - για την κατασκευή της cDNA βιβλιοθήκης χρησιμοποιείται η αντίστροφη μεταγραφάση.
 - Για κάθε είδος μπορούν να κατασκευαστούν πολλές cDNA βιβλιοθήκες, ανάλογα με το είδος του ιστού και το στάδιο της ανάπτυξης που διαλέγουμε.
 - Για την κατασκευή της cDNA βιβλιοθήκης είναι απαραίτητη η αποδιάταξη ενός μορίου δίκλωνου DNA.

B) Ερωτήσεις πολλαπλής επιλογής με μια απάντηση

Στις παρακάτω ερωτήσεις σωστή είναι μόνο μια απάντηση Α,Β,Γ,Δ ή Ε

1) Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες

- A) Κόβουν πάντα μεταξύ G και A όταν εντοπίσουν την ακολουθία: $5' GAATTC 3'$
 $3' CTTAAG 5'$
- B) Κόβουν πάντα 8 δεσμούς υδρογόνου και 2 φωσφοδιετερικούς δεσμούς
- Γ) Έχουν ως φυσιολογικό ρόλο την προστασία των βακτηρίων από ιούς
- Δ) Χρησιμοποιούνται στη μέθοδο αλυσιδωτής αντιγραφής πολυμεράσης
- Ε) Περιέχονται σε ευκαρυωτικά κύτταρα και ο φυσιολογικός ρόλος είναι το κόψιμο του DNA για την εισαγωγή του σε γονιδιωματική βιβλιοθήκη

2) Για τον εντοπισμό του ιού του AIDS χρησιμοποιείται:

- I) DNA πολυμεράση
II) RNA πολυμεράση
III) αντίστροφη μεταγραφάση
IV) πριμόσωμα
V) πρωταρχικά τμήματα
- A) Σωστό είναι μόνο το I
B) Σωστές είναι μόνο τα I και V
Γ) Σωστές είναι μόνο τα I,II και IV
Δ) Σωστές είναι μόνο τα I, III και V
Ε) Όλα είναι σωστά

3) Για να εντοπίσουμε ένα γονίδιο σε μια βιβλιοθήκη χρησιμοποιούμε μια μέθοδο...

- A) που εμπεριέχει ιχνηθέτιση
B) που εμπεριέχει δράση δεσμάσης
Γ) που εμπεριέχει δράση περιοριστικής ενδονουκλεάσης
Δ) που εμπεριέχει δράση DNA πολυμεράσης
Ε) που εμπεριέχει χρήση γονιδίου ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό

4) Η DNA δεσμάση έχει χρήση

- I) Στην αντιγραφή
- II) Στη μεταγραφή
- III) Στη μετάφραση
- IV) Στην κατασκευή μιας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης
- V) Στην κατασκευή μιας cDNA βιβλιοθήκης
- VI) Στην ανίχνευση
- VII) Στην PCR

- A) Σωστές είναι μόνο οι I, II και III
- B) Σωστές είναι μόνο οι I, IV και V
- Γ) Σωστές είναι μόνο οι IV, V
- Δ) Σωστές είναι οι I, II, IV, V και VI
- E) Σωστές είναι όλες

5) Ποια από τις παρακάτω προτάσεις που αφορούν την επιλογή μετασχηματισμένων βακτηριακών κλώνων είναι σωστή;

- A) Στην κατασκευή γονιδιακής βιβλιοθήκης δεν επιλέγονται βακτήρια
- B) Στην κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης δεν επιλέγονται βακτήρια
- Γ) Το αντιβιοτικό δρά μόνο σε μετασχηματισμένα βακτήρια
- Δ) Το γονίδιο ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό μπορεί να δράσει μόνο υπο την προϋπόθεση ότι το σημείο τομής της περιοριστικής ενδονουκλεάσης δεν βρίσκεται μέσα στο γονίδιο ανθεκτικότητας.
- E) Τα γονίδια ανθεκτικότητας βρίσκονται συνήθως στο κύριο μόριο DNA των προκαρυωτών και έτσι μεταβιβάζεται από γενιά σε γενιά με μειωτική διαίρεση και δημιουργία γαμετών.

6) Αν υπάρχει γονίδιο ανθεκτικότητας στο κύριο μόριο DNA, τότε δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί το συγκεκριμένο αντιβιοτικό για την επιλογή μετασχηματισμένων βακτηριακών κλώνων,

διότι

αν χρησιμοποιήσω αντιβιοτικό, του οποίου το γονίδιο ανθεκτικότητας βρίσκεται στο κύριο μόριο, θα παρουσιάζεται και στα μετασχηματισμένα και στα μη μετασχηματισμένα βακτήρια.

- A) Η πρώτη πρόταση είναι σωστή, η δεύτερη πρόταση είναι σωστή, ο σύνδεσμος είναι σωστός
- B) Η πρώτη πρόταση είναι σωστή, η δεύτερη πρόταση είναι σωστή, ο σύνδεσμος δεν είναι σωστός
- Γ) Η πρώτη πρόταση είναι σωστή, η δεύτερη πρόταση είναι λάθος
- Δ) Η πρώτη πρόταση είναι λάθος, η δεύτερη πρόταση είναι σωστή
- E) Και οι δύο προτάσεις είναι λάθος

9) Ποια από τις παρακάτω φράσεις που έχουν σχέση με ένζυμα είναι σωστή

- A) Οι ελικάσες κόβουν δεσμούς υδρογόνου και φωσφοδιεστερικούς δεσμούς, ξετυλίγοντας έτσι τη διπλή έλικα του DNA
- B) Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες κόβουν μόνο δεσμούς υδρογόνου
- Γ) Οι DNA πολυμεράσες δεν έχουν την δυνατότητα να ξεκινούν την αντιγραφή από μόνες τους
- Δ) Η RNA πολυμεράση τοποθετεί δεοξυριβονουκεοτίδια απέναντι από ριβονουκλεοτίδια
- E) Η αντίστροφη μεταγραφή διαβάζει την αλυσίδα RNA με κατεύθυνση 5' → 3'

8) Αντίστροφη μεταγραφάση

- A) Βρίσκεται σε κάθε φυσιολογικό άνθρωπο
- B) Συνθέτει με αντίστροφη φορά, δηλ. 3' → 5'
- Γ) Χρησιμοποιείται από ιούς σε ασυνεχή γονίδια
- Δ) Χρειάζεται για την κατασκευή γονιδιωματικής βιβλιοθήκης
- Ε) Χρειάζεται για την κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης

9) Ποια πρόταση που αφορά το σχηματισμό του ανασυνδυσμένου DNA δεν είναι σωστή

- A) Χρησιμοποιείται δεσμάση η οποία σχηματίζει φωσφοδιεστερικούς δεμούς και δεσμούς υδρογόνου
- B) Είναι απαραίτητο να έχουμε κόψει με την ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση και τον φορέα κλωνοποίησης και το μόριο DNA που θέλουμε να εισάγουμε
- Γ) Πλασμίδια και ιοί είναι κατάλληλοι φορείς κλωνοποίησης και συγκεκριμένα οι ιοί έχουν το πλεονέκτημα ότι μπορούν να χωρέσουν μεγαλύτερη ποσότητα DNA.
- Δ) Μερικές φορές το πλασμίδιο κλείνει χωρίς να έχει γίνει εισαχθεί το μόριο DNA που μας ενδιαφέρει να κλωνοποιήσουμε
- Ε) Χρησιμοποιώντας μόνο μια περιοριστική ενδονουκλεάση δεν μπορούμε να προσδιορίσουμε την φορά με την οποία θα εισαχθεί το μόριο DNA στο φορέα κλωνοποίησης.

10) Ποια από τις παρακάτω προτάσεις που αφορούν τη κατασκευή γονιδιωματικής βιβλιοθήκης είναι σωστή:

- A) Τα βακτήρια που δεν έχουν γονίδιο ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό έχουν μετασχηματιστεί
- B) Παρασκευάζεται ανασυνδυσμένο πλασμίδιο
- Γ) Παρασκευάζεται ανασυνδυσμένος ιός
- Δ) Χρησιμοποιείται δεσμάση
- Ε) Χρησιμοποιούνται περιοριστικές ενδονουκλεάσες

Γ) Να απαντήσετε με Σ (Σωστό) ή Λ (Λάθος) στις παρακάτω προτάσεις και να αιτιολογήσετε

- 1. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες είναι γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα που κόβουν το DNA σε ορισμένες περιοχές. ()
- 2. Η απομόνωση των περιοριστικών ενδονουκλεασών επέτρεψε στους επιστήμονες να αναπτύξουν την τεχνολογία του ανασυνδυσμένου DNA. ()
- 3. Ως φορέας κλωνοποίησης χρησιμοποιείται DNA ευκαρυωτικών κυττάρων ()
- 4. Με την τεχνολογία του ανασυνδυσμένου DNA μπορούμε να ερευνήσουμε. ()
- 5. Το ανασυνδυσμένο μόριο DNA αποτελείται από mRNA συγκεκριμένου κυτταρικού τύπου. ()
- 6. Το ένζυμο EcoRI κόβει σε όλες τις A που ακολουθούνται από G, αν διαβάσουμε από 5' → 3'. ()
- 7. Η διαδικασία δημιουργία υβριδίων DNA - RNA ονομάζεται μετασχηματισμός. ()
- 8. Με τη μέθοδο της PCR αντιγράφουμε αλληλουχίες DNA in vitro. ()

Δ) Να αντιστοιχίσετε:

I	II
A. Περιοριστικές ενδονουκλεάσες	1. Κυκλικά μόρια DNA των βακτηρίων
B. DNA δεσμάση	2. Ένζυμα που αναδιπλώνουν το DNA
Γ. Πλασμίδια	3. Κόβουν το DNA σε ειδικές θέσεις.
Δ. Ανασυνδυασμένο DNA	4. Ένζυμα που συνδέουν DNA με συμπληρωματικά άκρα.
E. Ελικάση	5. Ένζυμο EcoRI
	6. Ένζυμα που ζετυλίζουν το DNA.
	7. Φορείς κλωνοποίησης
	8. Μόριο με γονίδια από δυο ή περισσότερους οργανισμούς.

Ε) Να απαντήσετε στις παρακάτω ερωτήσεις

1. Που βρίσκει εφαρμογή η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA.
2. Τι είναι γενετική μηχανική;
3. Που βοήθησε η γενετική μηχανική;
4. Τι είναι οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες, ποιος ο φυσιολογικός τους ρόλος;
5. Τι γνωρίζετε για την EcoRI;
6. Τι είναι κλώνος;
7. Ποια είναι τα στάδια της διαδικασίας δημιουργίας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης;
8. Στη διαδικασία γονιδιωματικής ή cDNA βιβλιοθήκης ποιος ο ρόλος
 - a) των πλασμιδίων
 - β) των βακτηρίων
 - γ) των περιοριστικών ενδονουκλεασών
 - δ) της DNA δεσμάσης
 - ε) του γονιδίου ανθεκτικότητας;
9. Ποια είναι τα στάδια της διαδικασίας δημιουργίας cDNA βιβλιοθήκης;
10. Τι είναι μετασχηματισμός;
11. Γιατί πρέπει να χρησιμοποιηθεί η ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση για να κοπεί και ο φορέας κλωνοποίησης, αλλά και το DNA που θα ενσωματωθεί σ' αυτό;
12. Ποιους φορείς κλωνοποίησης γνωρίζετε;
13. Γιατί χρησιμοποιούμε το βακτηριοφάγο λ για τη δημιουργία γονιδιωματικής βιβλιοθήκης;
14. Τι είναι αποδιάταξη και τι υβριδισιοποίηση;
15. Τι είναι ανίχνευση και που χρησιμοποιείται;
16. Τι είναι PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης) και που χρησιμοποιείται;
17. Ποια η διαφορά μεταξύ cDNA και γονιδιωματικής βιβλιοθήκης;
18. Θέλουμε να μελετήσουμε το γενετικό υλικό ενός ρετροϊού. Μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε την μέθοδο PCR;
19. Μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τη γονιδιωματική βιβλιοθήκη για τη δημιουργία φαρμακευτικής πρωτεΐνης μέσω προκαρυωτικών οργανισμών;
20. Να αναφέρετε μια in vitro μέθοδο αντιγραφής του DNA.
21. Ποιες είναι οι διαφορές μεταξύ γονιδιωματικής και cDNA βιβλιοθήκης;
22. Ποιες κατηγορίες γονιδίων που υπάρχουν στο χρωμοσωμικό DNA ενός κυτταρικού τύπου δεν κλωνοποιούνται σε cDNA βιβλιοθήκη;
23. Τι σχέση έχουν ο ανιχνευτής με την αλυσίδα που πρόκειται να ανιχνευτεί;
24. Γιατί χαρακτηρίζεται η PCR ως επιλεκτική ότι αφορά την αντιγραφή του DNA;

ΣΤ) Ασκήσεις

1. Αν δυο μόρια DNA έχουν την αλληλουχία βάσεων που δίνεται παρακάτω, να εξηγήσετε ποιο από τα δυο θα υποστεί πιο εύκολα αποδιάταξη:
 - α) TTACATGTAATCCGTTTAA
AATGTACATTAGGCAAATT
 - β) CACGGGTAACCTGCTGAAT
GTGCCCATTTGGACGACTTA
2. Το πρόδρομο m-RNA για την ωοαλβουμίνη της κότας περιέχει επτά εσώνια και οκτώ εξώνια. Τα εσώνια καταλαμβάνουν το 70% του m-RNA. Αν απομωνοθεί το γονίδιο της ωοαλβουμίνης, υποστεί αποδιάταξη και υβριδιοποιηθεί με το κυτταροπλασματικό m-RNA που παράγει την ωοαλβουμίνη, καθώς και με το αντίστοιχο πρόδρομο m-RNA, να εξηγηθεί:
 - α) Ποια αλυσίδα του DNA μετέχει στην υβριδιοποίηση;
 - β) Ποιο το ποσοστό υβριδιοποίησης σε κάθε περίπτωση;
 - γ) Να σχεδιάσετε τα υβρίδια.
3. Σε μια εφαρμογή PCR επιχειρείται η σύνθεση τουλάχιστον 120 αντιγράφων ενός τμήματος κάποιου μορίου DNA. Το τμήμα αυτό συνίσταται από 50.000 νουκλεοτίδια. Η διάρκεια αντιγραφής του τμήματος αυτού με τη μέθοδο PCR διαρκεί 1 ώρα.
 - α) Μετά από πόσο χρόνο θα έχουμε τον επιθυμητό αριθμό αντιγράφων του τμήματος του DNA που μας ενδιαφέρει, εάν αρχικά έχουμε ένα αντίγραφο;
 - β) Μετά από πόσο χρόνο θα έχουμε τον επιθυμητό αριθμό αντιγράφων του τμήματος του DNA που μας ενδιαφέρει, εάν αρχικά έχουμε δέκα αντίγραφα;
 - β) Πόσα νουκλεοτίδια θα υπάρχουν σ' όλα συνολικά τα αντίγραφα;
 - γ) Πόσοι κλώνοι έχουν συντεθεί;
4. Σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο ένα γονίδιο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή μιας πρωτεΐνης 148 αμινοξέων. Αν το ίδιο γονίδιο κλωνοποιηθεί σ' ένα βακτηριακό πληθυσμό, θα παραχθεί η ακριβής πρωτεΐνη; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.
5. Αν ο ένας κλώνος του DNA είναι 5'-TTT-CTC-GAG-ATG-CCC-TTA-CGC-GAA-TTC-CGC-CAA-CAT-GGG-GAA-TTC-TAG-CTC-GAG-AAA-3', να βρεθούν:
 - α) ο άλλος κλώνος του DNA
 - β) Πόσα κομμάτια DNA θα προκύψουν με τη χρήση της EcoRI
 - γ) Πόσα κομμάτια DNA θα προκύψουν με τη χρήση της XhoI, που κόβει
5'-C|TCGA G-3'
3'-G AGCT|C-5'.
 - δ) Αν γνωρίζουμε ότι το τμήμα αυτό του DNA κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε και τις δυο ενδονουκλεάσες και γιατί;

6. Ένα δίκλωνο γραμμικό μόριο DNA έχει μήκος (AB) = 80 kb. Με την επίδραση EcoRI κόβεται σε δυο τμήματα μήκους 20 kb και 60 kb. Με επίδραση της Hpa I κόβεται σε τρία τμήματα μήκους 8 kb, 40 kb και 32 kb. Με επίδραση και των δυο ενδονουκλεασών κόβεται σε τέσσερα τμήματα μήκους 20 kb, 40 kb, 12 kb και 8 kb.

7. Δίνεται μείγμα μορίων DNA και ένας ανιχνευτής RNA.

DNA μόριο I $\left[\begin{array}{l} \text{Κλώνος I}\alpha \quad 5' \quad \text{TACCTCAATCCGTATTA} \quad 3' \\ \text{Κλώνος I}\beta \quad 3' \quad \text{ATGGAGTTAGGCATAAT} \quad 5' \end{array} \right.$

DNA μόριο II $\left[\begin{array}{l} \text{Κλώνος II}\alpha \quad 3' \quad \text{CCGTACGGATTGAGGAA} \quad 5' \\ \text{Κλώνος II}\beta \quad 5' \quad \text{GGCATGCCTAACTCCTT} \quad 3' \end{array} \right.$

Ανιχνευτής: $5' \quad \text{UACGGAUUGA} \quad 3'$

Να εξηγήσετε τι είναι ανιχνευτής, να περιγράψετε τις διαδικασίες που θα ακολουθηθούν προκειμένου ο ανιχνευτής να υβριδοποιήσει την κατάλληλη αλληλουχία DNA και να εξηγήσετε ποιος είναι ο κλώνος του DNA που θα υβριδοποιηθεί.

8. Δίνεται δίκλωνο μόριο DNA το οποίο περιέχει ασυνεχές γονίδιο που μεταγράφεται σε mRNA. Τα υπογραμμισμένα τμήματα αντιστοιχούν σε εσώνια

εσώνιο

...GAAGGAAT TC GATGGC TTTAGGGGCCGTATGAAT ...

...C TTC C TTAAGCTACC GAAATCCC CGGCATACTTA ...OH

εσώνιο

α) Πού συναντάμε ασυνεχή γονίδια;

β) Να προσδιορίσετε τα 3' και 5' άκρα του παραπάνω μορίου DNA. Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

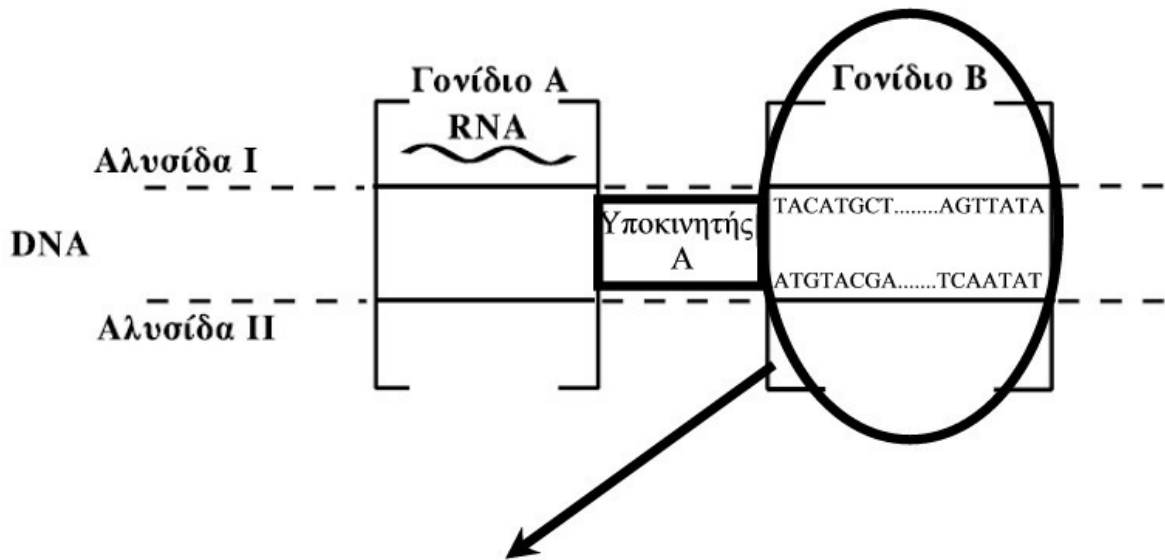
γ) Να γράψετε το τμήμα του πρόδρομου mRNA και του ώριμου mRNA που προκύπτουν από τη μεταγραφή του παραπάνω μορίου DNA, χωρίς αιτιολόγηση.

δ) Πώς προκύπτει το ώριμο mRNA;

ε) Μπορεί η περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI να κόψει το παραπάνω τμήμα DNA; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

9. Ένα πλασμίδιο που χρησιμοποιείται ως φορέας κλωνοποίησης για την κατασκευή μιας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης διαθέτει τρία γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό (στρεπτομυκίνη, αμπικιλίνη και πενικιλίνη). Η αλληλουχία βάσεων που αναγνωρίζει η EcoRI βρίσκεται μέσα στο γονίδιο ανθεκτικότητας στην πενικιλίνη. Να εξηγήσετε με ποιον τρόπο θα επιλέξετε τα μετασχηματισμένα από τα μη μετασχηματισμένα βακτήρια ώστε να προχωρήσετε στη φάση της κλωνοποίησης, εάν γνωρίζετε ότι τα βακτήρια που χρησιμοποιούνται ως κύτταρα - ξενιστές φέρουν στο κύριο μόριο DNA ένα γονίδιο ανθεκτικότητας στην αμπικιλίνη. Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας.

10: Σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο υπάρχουν δυο γονίδια σε περιοχή χρωμοσωμάτων. Από το πρώτο γονίδιο γίνεται η μεταγραφή όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα. Το γονίδιο B περιέχει την αλληλουχία που αναγράφεται που κωδικοποιεί, όταν εκφραστεί ένα ολιγοπεπτίδιο. Η αλληλουχία γράφτηκε ολόκληρη και με ακριβώς τον ίδιο προσανατολισμό που έχει και το γονίδιο B (δηλαδή πχ. το πάνω αριστερά στο γονίδιο του σχήματος βρίσκεται και πάνω αριστερά στην αλληλουχία). Η περιοχή στην παρένθεση που υπογραμμίζεται αντιστοιχεί σε εσώνιο.



...TACATGCTTAAGGTTA(GGCCGGT)TGATCGTGCCAT C CTTAAGTTATA...
 ...ATGTACGAATTCCAAT(CCGGCCA)ACTAGCACGGTAGGAATTCAATAT...

α) Να σημειώσετε τον προσανατολισμό του παραπάνω τμήματος DNA και να αιτιολογήσετε.

β) Να γράψετε χωρίς αιτιολόγηση τον προσανατολισμό του πρόδρομου και ώριμου mRNA καθώς και τα κωδικόνια που προκύπτουν σημειώνοντας τον σωστό προσανατολισμό, κωδικόνιο ή κωδικώνια (αν υπάρχουν πολλές περιπτώσεις) έναρξης και λήξης

γ) Σε ποια μεριά του γονιδίου (αριστερά ή δεξιά) βρίσκεται ο υποκινητής B; Να αιτιολογήσετε

δ) Το γονίδιο B μεταφέρεται με τη χρήση περιοριστικών ενδονουκλεασών σε βακτηριακό κλώνο, ο οποίος θα χρησιμοποιηθεί για βιοτεχνολογική παρασκευή του ολιγοπεπτιδίου που προκύπτει από το γονίδιο B. Στη διάθεσή μας έχουμε την περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI καθώς και την Hae III του οργανισμού *Haemophilus Aegyptius* που κόβει μεταξύ G και C, δηλαδή στα σημεία που είναι υπογραμμισμένα 5' CC_GG 3'
 3' GG_CC 5'

Να σημειώσετε στην αλληλουχία τα σημεία τομής της κάθε περιοριστικής ενδονουκλεάσης, αν υπάρχουν, και να αιτιολογήσετε αν μπορείτε να χρησιμοποιήσετε μια, καμία ή και τις δυο περιοριστικές ενδονουκλεάσες