

ΔΙΑΓΩΝΙΣΜΑ ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

ΘΕΜΑ 1^ο

A. (2Χ5=10)

1. Η μεταφορά του ανασυνδυσμένου μορίου DNA σε ένα κύτταρο ξενιστή ονομάζεται:
 - a. εμβολιασμός
 - b. μετασχηματισμός
 - c. υβριδοποίηση
 - d. κλωνοποίηση

2. Το ένζυμο EcoRI δρα στο γονιδίωμα ευκαρυωτικού κυττάρου. Έτσι προκύπτουν:
 - a. χιλιάδες τμήματα του DNA με τον ίδιο αριθμό νουκλεοτιδίων , που μπορούν να συνδεθούν με το πλασμίδιο φορέα
 - b. πολλά τμήματα του DNA από τα οποία μόνο ένα μπορεί να συνδεθεί με το πλασμίδιο φορέα
 - c. πολλά διαφορετικά τμήματα του DNA τα περισσότερα από τα οποία έχουν τη δυνατότητα να συνδεθούν με το πλασμίδιο φορέα
 - d. δύο τμήματα του DNA με διαφορετικό αριθμό νουκλεοτιδίων από τα οποία μόνο το ένα μπορεί να συνδεθεί με το πλασμίδιο φορέα .

3. Μερικά πλασμίδια φέρουν γονίδιο που σχετίζεται με την ευαισθησία των βακτηρίων σε κάποιο αντιβιοτικό. Αυτό επιτρέπει:
 - a. την κλωνοποίηση των βακτηρίων στα οποία έχει εισαχθεί αυτό το ανασυνδυσμένο πλασμίδιο
 - b. την καταστροφή του ανασυνδυσμένου πλασμιδίου πριν την εισαγωγή του στο βακτήριο ξενιστή
 - c. την κλωνοποίηση των βακτηρίων που δε φέρουν το πλασμίδιο
 - d. την αναπαραγωγή του ανασυνδυσμένου πλασμιδίου με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης .

4. Ποια γονιδιωματική βιβλιοθήκη κυττάρων σας περιμένετε να περιέχει περισσότερους βακτηριακούς κλώνους; Αυτή που θα δημιουργηθεί με τη δράση της:
 - a. EcoRI
 - b. HhaI *¹
 - c. EcoT221**²
 - d. BamHI***³

¹ GCGC

CGCG

² ATGCAT

TACGTA

³ GGATCC

CCTAGG

5. Βακτηριακός κλώνος που απομονώθηκε από cDNA βιβλιοθήκη πρόδρομου ερυθροκυττάρου ανθρώπου δεν μπορεί να περιέχει αντίγραφα:
- Του γονιδίου που κωδικοποιεί τις β αλυσίδες της αιμοσφαιρίνης
 - Του γονιδίου RNA πολυμεράσης
 - Του γονιδίου της αντίστροφης μεταγραφάσης
 - Γονιδίου ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό
- B. α. Ποιοι οι δύο θεμελιώδεις στόχοι της γενετικής μηχανικής; (5)
β. Ποιες οι εφαρμογές της τεχνολογίας του ανασυνδυσμένου DNA (5)

ΘΕΜΑ 2^ο

- Τι είναι:
 - Η γενετική μηχανική και ποιοι οι στόχοι της (5)
 - Το ανασυνδυσμένο DNA (2)
- Ποιες είναι οι εφαρμογές της PCR;
- Ποια ένζυμα χρησιμοποιούνται για την κατασκευή γονιδιωματικής βιβλιοθήκης και με ποιο τρόπο; (10)
- Ποια τα χαρακτηριστικά των πλασμιδίων που τα καθιστούν ικανοποιητικούς φορείς κλωνοποίησης; (8)

ΘΕΜΑ 3^ο

- Με ποια τεχνική μπορούμε να επιλέξουμε τον κλώνο εκείνο που περιέχει το επιθυμητό τμήμα DNA, ανάμεσα σε πολλούς άλλους μιας cDNA βιβλιοθήκης; (6)
- Να αναφέρετε τις διαφορές ανάμεσα στη γονιδιωματική και τη cDNA βιβλιοθήκη. (9)
- Εξηγήστε γιατί κανένας κλώνος καμίας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης του ανθρώπου δεν μπορεί να παράγει ανθρώπινη πρωτεΐνη. (10)

ΘΕΜΑ 4^ο

A. Γονίδιο που προέρχεται από μιτοχονδριακό DNA αποτελείται από 1500 ζεύγη αζωτούχων βάσεων. Ακριβώς πριν και ακριβώς μετά το γονίδιο βρίσκεται η αλληλουχία GGATCC (δίκλωνη) την οποία αναγνωρίζει και κόβει η περιοριστική ενδονουκλεάση BamHI. Πλασμίδιο 2500 ζευγών αζωτούχων βάσεων περιέχει τη χαρακτηριστική αλληλουχία μια φορά και επωάζεται αρχικά σε διάλυμα BamHI και στη συνέχεια σε διάλυμα που περιέχει τα γονίδια. Τα πλασμίδια που προκύπτουν ελέγχονται ως προς τον αριθμό των βάσεων τους και προκύπτει ότι μερικά πλασμίδια αποτελούνται από 2500 ζεύγη βάσεων, μερικά από 4006 ζεύγη βάσεων και μερικά από 5512 ζεύγη βάσεων. Πως μπορεί να ερμηνευτεί ο αριθμός των βάσεων στα παραπάνω πλασμίδια; (10)

B. Δίνεται το παρακάτω DNA που περιέχει ένα ανθρώπινο γονίδιο. Αφού εντοπίσετε την κωδική αλυσίδα του, χρησιμοποιείστε την ECORI για να το κόψετε και να το ενσωματώσετε σε φορέα κλωνοποίησης.

ΑΓΑΑΤΤCTATAAGGATAGATGCCCGGGTGGTAGCGAATTCGCTAGATAG

- i) Σημειώστε τα 5' 3' άκρα και αιτιολογήστε την απάντησή σας
- ii) Ενσωματώστε το τμήμα που θα προκύψει μετά τη δράση της *ECORI* σε πλασμίδιο, που έχετε ήδη κόψει με την ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση και σχεδιάστε το.
- iii) Πως ονομάζεται η παραπάνω βιβλιοθήκη και γιατί;
- iv) Το ανασυνδυσμένο πλασμίδιο εισάγεται σε βακτήριο για την *in vitro* παραγωγή της πρωτεΐνης που κωδικοποιεί. Αιτιολογήστε πως είναι εφικτή αυτή η παραγωγή; Ποιες είναι οι απαραίτητες προϋποθέσεις για την μεταγραφή και μετάφραση του εν λόγω γονιδίου;
- v) Τι επεξεργασία έχει υποστεί το βακτήριο, για τον μετασχηματισμό του και ποιες προϋποθέσεις πρέπει αυτό να πληροί;
(Δεν λαμβάνετε υπόψη τα εσώνια του γονιδίου) (10)

Γ. Ποιο θα είναι το αποτέλεσμα της δράσης της *EcoRI* (πόσα τμήματα θα προκύψουν και πόσοι δεσμοί θα σπάσουν) σε κάθε ένα από τα τέσσερα μόρια DNA που ακολουθούν (5)

