

Ονοματεπώνυμο:

ΘΕΜΑ 1

- Είναι δυνατόν σε μία cDNA βιβλιοθήκη από σωματικό κύτταρο ανθρώπου να εντοπίζεται γονίδιο που εκφράζει tRNA;
- Σημειώστε με + ή – εάν μπορούμε να εντοπίσουμε στις βιβλιοθήκες τα γονίδια ή τις αλληλουχίες που αναφέρονται στην πρώτη στήλη

	Γονιδιωματική βιβλιοθήκη	cDNA βιβλιοθήκη
Γονίδιο της DNA πολυμεράσης		
5' αμετάφραστη περιοχή του γονιδίου της ακτίνης		
Υποκινητής του γονιδίου της μυοσίνης		
Ανθρώπινο γονίδιο για tRNA		
Γονίδιο για tRNA φαινυλαλανίνης		
Χειριστής οπερονίου λακτόζης		
Εσώνια γονιδίου του μεταφορά της ντοπαμίνης		

- Απομονώνουμε ώριμο mRNA από ανθρώπινο σωματικό κύτταρο με σκοπό τη δημιουργία cDNA, την ενσωμάτωσή του σε βακτήρια, και την παραγωγή της αντίστοιχης πρωτεΐνης, το οποίο έχει την ακόλουθη αλληλουχία:

5' ACUUCGGAUGCCCGGCUCGCCAUAACCGAAAAA 3'

Ποιον από τους δύο παρακάτω ανιχνευτές θα χρησιμοποιήσουμε για την απομόνωση του γονιδίου αυτού από μία cDNA βιβλιοθήκη;

1^{ος} ανιχνευτής: 3' ACCGCUCGGC 5'

2^{ος} ανιχνευτής: 3' ACCGGUCGGC 5'

Αιτιολογήστε την απάντησή σας.

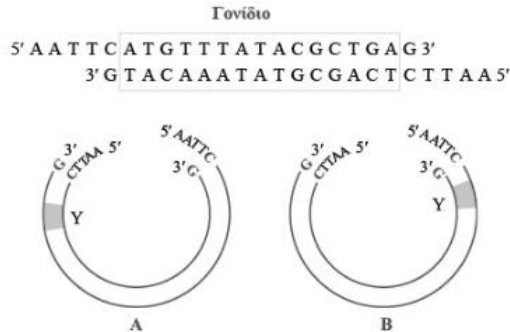
- Για να γίνει κλωνοποίηση ενός γονιδίου χρησιμοποιήθηκαν: περιοριστική ενδονουκλεάση A για τον τεμαχισμό του DNA εκατέρωθεν του γονιδίου, περιοριστική ενδονουκλεάση B για τον τεμαχισμό του πλασμιδιακού DNA σε μία θέση, DNA δεσμάση και όλα τα αντιδραστήρια που χρειάζονται για το σχηματισμό ανασυνδιασμένου πλασμιδίου. Όμως, η διαδικασία δεν στέφτηκε με επιτυχία διότι:
 - Το πλασμίδο δεν είχε γονίδιο ανθεκτικότητας για κάποιο αντιβιοτικό.
 - Δεν ήταν επαρκής η ποσότητα της DNA δεσμάσης.
 - Τα δύο μόρια DNA δεν είχαν συμπληρωματικά άκρα.
 - Χρησιμοποιήθηκαν 2 διαφορετικές περιοριστικές ενδονουκλεάσες για το ξένο DNA και το πλασμίδιο αντίστοιχα.
 - Τα βακτήρια-ξενιστές δεν είχαν κυτταρικό τοίχωμα

ΘΕΜΑ 2

- Δώστε τον ορισμό του κλώνου
- Παρουσιάστε σε δύο στήλες τις διαφορές μεταξύ μιας γονιδιωματικής και μίας cDNA βιβλιοθήκης (ως προς την προέλευση και το είδος της γενετικής πληροφορίας που διαθέτουν, ως προς τα απαραίτητα ένζυμα, ως προς τη χρησιμότητα)
- Δώστε μία **σύντομη και περιεκτική** περιγραφή των τριών μεθόδων κλωνοποίησης τμημάτων DNA που γνωρίζετε.

ΘΕΜΑ 3

1. Το ακόλουθο τμήμα DNA έχει κοπεί με ένζυμο EcoRI και περιέχει γονίδιο προκαρυωτικού οργανισμού. Πρόκειται να εισαχθεί σε φορέα κλωνοποίησης – πλασμίδιο, προκειμένου να εκφραστεί και να παράξει ένα ολιγοπεπτίδιο. Ως φορέας κλωνοποίησης μπορεί να χρησιμοποιηθεί



- A. Μόνο το A
B. Μόνο το B
Γ. Οποιοδήποτε από τα δύο
Δ. Κανένα από τα δύο

Αιτιολογήστε την απάντησή σας.

Υ: υποκινητής

2. Στο ίδιο βακτήριο εισάγονται ταυτόχρονα δύο ανασυνδυασμένα πλασμίδια: το πλασμίδιο A και το πλασμίδιο B. Στο πλασμίδιο A έχει εισαχθεί το ευκαρυωτικό γονίδιο α, μαζί με τον υποκινητή του, σε θέση που βρίσκεται μακριά από υποκινητές γονιδίων του πλασμιδίου. Το πλασμίδιο B φέρει το ευκαρυωτικό γονίδιο β, χωρίς υποκινητή, το οποίο όμως έχει εισαχθεί δίπλα στον υποκινητή ενός γονιδίου του πλασμιδίου. Θεωρώντας ότι τα γονίδια αποτελούνται μόνο από εξώνια, ποια από τις προτάσεις που ακολουθούν είναι η σωστή:

- A. στο βακτήριο θα παραχθούν και οι δύο πρωτεΐνες.
B. στο βακτήριο θα παραχθεί μόνο η πρωτεΐνη α.
Γ. στο βακτήριο θα παραχθεί μόνο η πρωτεΐνη β.
Δ. δεν θα παραχθεί καμία από τις δύο πρωτεΐνες

Αιτιολογήστε την απάντησή σας (εν συντομία).

ΘΕΜΑ 4

Πλασμίδιο που χρησιμοποιείται ως φορέας κλωνοποίησης σε γονιδωματική βιβλιοθήκη περιέχει τρία γονίδια:

- i. Γονίδιο ανθεκτικότητας στην αμπικιλίνη
ii Γονίδιο *gfp*, με θέση EcoRI, που φθορίζει πράσινο όταν το κύτταρο εκτίθεται σε υπεριώδη ακτινοβολία
iii Γονίδιο *arac*, το οποίο παρουσία αραβινόζης επάγει την έκφραση του *gfp*.

Το πλασμίδιο χρησιμοποιείται για το μετασχηματισμό βακτηρίων- ξενιστών, τα οποία χωρίζονται σε 4 ομάδες και καλλιεργούνται όπως φαίνεται στην αριστερή στήλη του Πίνακα.

Συνθήκες καλλιέργειας	Αποτέλεσμα
Θρεπτικό μέσο παρουσία αμπικιλίνης	Λίγες λευκές αποικίες
Θρεπτικό μέσο παρουσία αμπικιλίνης και αραβινόζης	Μετά από έκθεση σε UV, λίγες λευκές αποικίες και λίγες πράσινες αποικίες
Θρεπτικό μέσο παρουσία στρεπτομυκίνης και αραβινόζης	Καμία αποικία
Θρεπτικό μέσο	Μυριάδες αποικίες

- A. Εξηγήστε τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στη δεξιά στήλη του Πίνακα.
B. Από ποιο τρυβλίο θα απομονώσετε μετασχηματισμένους κλώνους με ανασυνδυασμένο πλασμίδιο;