



ΑΣΚΗΣΗ

Δίνεται το παρακάτω γονίδιο του ανθρώπου που περιέχει ένα εσώνιο:

5'-CACTTACATCCCCATGGGGTGGGCATGCAAATTTAGGCATCCA-3'
3'-GTGAATGTAGGGGTACCCACCCGTACGTTTAAATCCGTAGGT-5'

Το γονίδιο αυτό εκφράζεται αποκλειστικά στα μυϊκά κύτταρα του ανθρώπου και είναι υπεύθυνο για τη σύνθεση της παρακάτω πρωτεΐνης:

HOOC- μεθειονίνη - γλυκίνη - τρυπτοφάνη - αλανίνη - φαινυλαλανίνη -NH₂

- α. Να βρείτε ποια είναι η κωδική αλυσίδα του γονιδίου. Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας. Δίνονται οι παρακάτω αντιστοιχίες από το γενετικό κώδικα:
αλανίνη: GCA, γλυκίνη: GGG, τρυπτοφάνη: UGG, φαινυλαλανίνη: UUU.
- β. Να γράψετε το αντικωδικόνιο του τρίπου tRNA που συμμετέχει στη μετάφραση του παραπάνω γονιδίου και να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.
- γ. Έχετε στη διάθεσή σας τη cDNA βιβλιοθήκη των μυϊκών κυττάρων του ανθρώπου, καθώς και τα τρία παρακάτω μόρια - ανιχνευτές:

Ανιχνευτής Α: 5'TGGGGTGGG3'

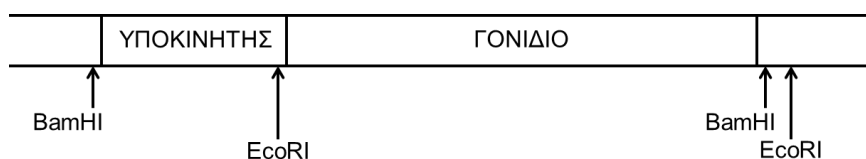
Ανιχνευτής Β: 5'ATGCCTAAA3'

Ανιχνευτής Γ: 5'GCATGGGGG3'

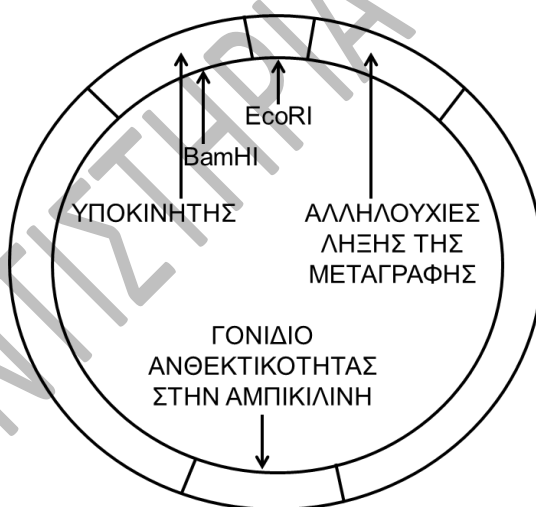
Να βρείτε ποιος ή ποιοι από τους παραπάνω ανιχνευτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον εντοπισμό του βακτηριακού κλώνου της cDNA βιβλιοθήκης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή της πρωτεΐνης της άσκησης. Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

- δ. Θέλετε να μελετήσετε το πρόδρομο mRNA που παράγεται από τη μεταγραφή του γονιδίου της άσκησης. Για το σκοπό αυτό απομονώθηκε, από το πυρηνικό DNA των μυϊκών κυττάρων του ανθρώπου, το τμήμα του ινιδίου χρωματίνης που περιέχει το συγκεκριμένο γονίδιο μαζί με τον υποκινητή του.

Παρακάτω δίνεται αυτό το τμήμα DNA, καθώς και τα σημεία στα οποία μπορεί να κοπεί από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες EcoRI και BamHI:



Δίνεται επίσης το πλασμίδιο που θα χρησιμοποιηθεί ως φορέας κλωνοποίησης για τη μεταφορά του τμήματος DNA στο βακτήριο *Escherichia coli*, με σκοπό την παραγωγή στα κύτταρα αυτά του πρόδρομου mRNA του γονιδίου. Το πλασμίδιο αυτό περιέχει έναν υποκινητή και αλληλουχίες λήξης της μεταγραφής, καθώς και ένα γονίδιο ανθεκτικότητας στην αμπικιλίνη. Ο υποκινητής και οι αλληλουχίες λήξης της μεταγραφής που υπάρχουν στο πλασμίδιο προέρχονται από ένα γονίδιο του βακτηρίου *E. coli* που μεταγράφεται συνεχώς. Στο παρακάτω σχήμα παριστάνεται το πλασμίδιο αυτό καθώς και τα σημεία που κόβεται από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες που αναφέρθηκαν προηγουμένως:



Να βρείτε ποια από τις δύο περιοριστικές ενδονουκλεάσες, EcoRI ή BamHI, πρέπει να χρησιμοποιήσετε για να δημιουργήσετε βακτήρια τα οποία θα μπορούν να παράγουν το πρόδρομο mRNA του γονιδίου της άσκησης. Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.