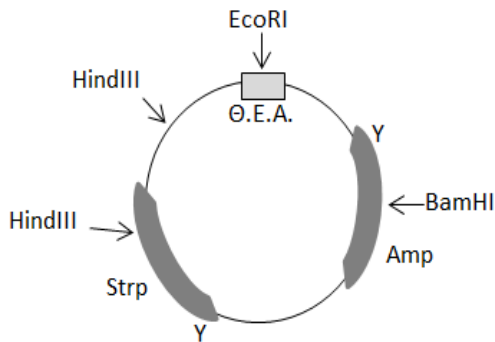


ΘΕΜΑ 4

4.1 Η «Green Fluorescent Protein» ή GFP, μια πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη, παράγεται φυσιολογικά από τις μέδουσες του είδους *Aequorea victoria*, οι οποίες αποτελούν ευκαρυωτικούς οργανισμούς, που ζουν, κυρίως, στις δυτικές ακτές της Νοτίου Αμερικής. Μια ερευνητική ομάδα θέλει να τροποποιήσει με τις μεθόδους της γενετικής μηχανικής κάποια βακτήρια ώστε να φθορίζουν με πράσινο χρώμα.

α. Να εξηγήσετε ποιο είδος βιβλιοθήκης (γονιδιωματική ή cDNA) θα πρέπει να κατασκευάσουν οι ερευνητές ώστε να κλωνοποιήσουν και να εκφράσουν την πρωτεΐνη GFP στα βακτήρια (μονάδες 3). Να ονομάσετε τα ένζυμα, εκτός από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες, που θα χρειαστούν κατά τη διαδικασία κατασκευής της βιβλιοθήκης (μονάδες 3).



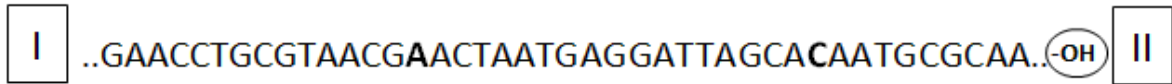
Θ.Ε.Α. = θέση έναρξης της αντιγραφής
Strp = Γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό στρεπτομυκίνη
Amp = Γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό αμπικιλίνη
Y = θέση υποκινητή αντίστοιχων γονιδίων

Με βέλη υποδεικνύονται οι θέσεις που αναγνωρίζουν οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες EcoRI, BamHI και HindIII.

β. Οι ερευνητές έχουν στη διάθεσή τους το παραπάνω πλασμίδιο που θα χρησιμοποιήσουν ως φορέα κλωνοποίησης. Να εξηγήσετε ποια περιοριστική ενδονουκλεάση θα επιλέξουν για να κατασκευάσουν μόρια ανασυνδυασμένου DNA (μονάδες 6).

Μονάδες 12

4.2 Η αντιγραφή του DNA είναι μια πολύπλοκη διαδικασία στην οποία εμπλέκονται πολλά ένζυμα με εξειδικευμένη λειτουργία. Παρακάτω δίνεται η αλληλουχία της μιας αλυσίδας ενός τμήματος DNA, η οποία αντιγράφεται ασυνεχώς και εντοπίζεται μέσα σε μια διχάλα αντιγραφής. Στο τμήμα αυτό σχηματίζονται δύο πρωταρχικά τμήματα, που έχουν μήκος πέντε νουκλεοτιδίων το καθένα και ξεκινούν από τα νουκλεοτίδια που επισημαίνονται με έντονα γράμματα στην παρακάτω αλληλουχία, δηλαδή την αδενίνη (A) και τη κυτοσίνη (C), αντίστοιχα.



- α. Να γράψετε τη συμπληρωματική αλυσίδα DNA που θα σχηματιστεί μετά την ολοκλήρωση της αντιγραφής της παραπάνω αλυσίδας και την αντικατάσταση των πρωταρχικών τμημάτων (μονάδες 3).
- β. Να εξηγήσετε σε ποια θέση, στην I ή στη II, βρίσκεται η θέση έναρξης της αντιγραφής (μονάδες 4).
- γ. Να γράψετε τα πρωταρχικά τμήματα (με τις κατευθύνσεις τους) που θα σχηματιστούν (μονάδες 4) και να ονομάσετε το ένζυμο που εμπλέκεται στο σχηματισμό τους (μονάδες 2).

Μονάδες 13