ΑΣΚΗΣΕΙΣ 4^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

1) Σε μία 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;

β) Πόσα νουκλεοτίδια θα υπάρχουν σ' όλα συνολικά τα αντίγραφα και πόσα νουκλεοτίδια θα έχουν χρησιμοποιηθεί για τη σύνθεσή τους;

γ) Πόσοι κλώνοι θα έχουν συντεθεί;

2) Η περιοριστική ενδονουκλεάση MspI κόβει την αλληλουχία - C C G G-
- G G C C-

μεταξύ των δύο βάσεων C, δηλαδή: -C C G G
-G G C C

και η TaqI κόβει την αλληλουχία: -T C G A- μεταξύ των βάσεων T και C, δηλαδή:
-A G C T-

-T C G A-
-A G C T-

Δίνεται η αλληλουχία:

A T T C G A G C C G G T T G A T T **A A C T G A C C G G A T A T C G C G T C G A C C G** G
T A A G C T C G G C C A A C T A A **T T G A C T G G C C T A T A G C G C A G C T G G C** C

Το τμήμα μεταξύ των αγκυλών πρόκειται να κλωνοποιηθεί.

α) Ποια περιοριστική ενδονουκλεάση είναι η κατάλληλη;

β) Ποια αλληλουχία πρέπει να διαθέτει ο φορέας κλωνοποίησης;

γ) Πόσους φωσφοδιεστερικούς δεσμούς θα σπάσει κάθε περιοριστική ενδονουκλεάση στο δεδομένο τμήμα και πόσοι θα είναι οι υδρογονικοί δεσμοί που θα σπάσουν;

3) Από τη δράση της EcoRI σ' ένα μόριο DNA ευκαρυωτικού κυττάρου δημιουργήθηκαν 5 κομμάτια.

α) Σε πόσα σημεία του μορίου DNA έδρασε η EcoRI;

β) Πόσων δεσμών τη διάσπαση προκάλεσε η EcoRI;

γ). Πόσα πλασμίδια χρειάζονται για την κατασκευή μιας «βιβλιοθήκης» του συγκεκριμένου μορίου DNA;

δ) Πόσων δεσμών τη διάσπαση θα προκαλέσει η EcoRI στα πλασμίδια αυτά;

4) Στον άνθρωπο το γονίδιο που κωδικοποιεί για την σύνθεση του αιμοσυγκολλητικού παράγοντα VIII βρίσκεται στο χρωμόσωμα X. Έχει μήκος 186.000 ζεύγη βάσεων και αποτελείται από 26 εξώνια που συνιστούν το 5% των βάσεων του γονιδίου. Το μόριο DNA του χρωμοσώματος X έχει μήκος $1,6 \cdot 10^8$ ζεύγη βάσεων (περίπου 40 φορές μεγαλύτερο από το μόριο DNA του βακτηρίου *Escherichia coli*).

Αν μετά τη μετάφραση η παραγόμενη πρωτεΐνη δεν υφίσταται καμία τροποποίηση, βρείτε:

α) το μήκος του μορίου cDNA που πρόκειται να κατασκευασθεί για την δημιουργία cDNA βιβλιοθήκης.

β) το μοριακό βάρος του παράγοντα VIII.

(Δίνεται: μέσο μοριακό βάρος αμινοξέος=100)

50 ΑΥΚΕΙΟ ΙΛΙΟΥ

5) Δίνεται το παρακάτω τμήμα μορίου DNA προκαρυωτικού κυττάρου.

5’ G A A T T C T T A A T G C A A G A T C A T A A A G A A T T C T A G 3’
3’ C T T A A G A A T T A C G T T C T A G T A T T T C T T A A G A T C 5’

Το παραπάνω τμήμα DNA κόβεται με EcoRI, προκειμένου να ενσωματωθεί σε κατάλληλο πλασμίδιο που έχει κοπεί με την ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση, με τελικό σκοπό να εισαχθεί σε βακτήριο για την παραγωγή φαρμακευτικού πολυπεπτιδίου.

Να βρείτε την αλληλουχία των αμινοξέων του πολυπεπτιδίου με χρήση του γενετικού κώδικα.

6) Α. Δίνεται το παρακάτω τμήμα μορίου DNA προκαρυωτικού κυττάρου:

5' G A A T T C T T A A T G C A A G A T C A T A A A G A A T T C T A G 3'

3' C T T A A G A A T T A C G T T C T A G T A T T T C T T A A G A T C 5'

Το παραπάνω τμήμα DNA κόβεται με EcoRI, προκειμένου να ενσωματωθεί σε κατάλληλο πλασμίδιο που έχει κοπεί με την ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση, με τελικό σκοπό να εισαχθεί σε βακτήριο για την παραγωγή φαρμακευτικού πολυπεπτιδίου.

i. Να βρείτε την αλληλουχία των αμινοξέων του πολυπεπτιδίου με χρήση του (παρατιθέμενου) γενετικού κώδικα.

ii. Να αιτιολογήσετε την απάντηση σας.

Β. Να περιγράψετε τις διαδικασίες στις οποίες γνωρίζετε ότι βρίσκει εφαρμογή η ιχνηθέτηση.

(Πανελλαδικές Εξετάσεις 2002)

7. Το παρακάτω μόριο DNA κόβεται με την περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI.

A T T C G T A G A A T T C G A A G G T T A C G G G A C C A T A A C T T T C G A A T T C A T
T A A G C A T C T T A A G C T T C C A A T G C C C T G G T A T T G A A A G C T T A A G T A

α. Ποια είναι η μη κωδική αλυσίδα του παραπάνω τμήματος, αν αυτό περιέχει την πληροφορία :για σύνθεση πολυπεπτιδίου; Να σημειώσετε τα -5' , -3'άκρα του.

β. Να γράψετε την αλληλουχία βάσεων του mRNA που προκύπτει από τη μεταγραφή του παραπάνω τμήματος

γ. Να γράψετε την σειρά των αντικωδικονίων tRNA που συμμετέχουν κατά τη μετάφραση του παραπάνω γονιδίου.

δ. Πόσοι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί και πόσοι δεσμοί υδρογόνου παραμένουν στο γονίδιο μετά την δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης;

8. Ένα δίκλωνο μόριο DNA κόβεται με την περιοριστική ενδονουκλεάση HindIII η οποία αναγνωρίζει την αλληλουχία 5’ A A G C T T 3’
3’ T T C G A A 5’·
και κόβει μεταξύ των 2 A. Η αλληλουχία βάσεων που αναγνωρίζει η περιοριστική ενδονουκλεάση βρίσκεται σε 3 σημεία στο παραπάνω μόριο DNA.

50 ΛΥΚΕΙΟ ΛΙΟΥ

α. Πόσα κομμάτια προκύπτουν από την επίδραση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης:
β. Πόσα κομμάτια από αυτά μπορούν άμεσα να κλωνοποιηθούν:
γ. Πόσα πλασμίδια θα χρησιμοποιηθούν για την κλωνοποίηση των παραπάνω κομματιών:
δ. Πόσα πλασμίδια θα χρησιμοποιηθούν κατά την επίδραση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης στο παραπάνω μόριο DNA.

9. Το ένζυμο EcoRI αποκόπτει μικρό γραμμικό δίκλωνο μόριο DNA σε 2 κομμάτια Α και Β. Το κομμάτι Α αποτελείται από 212 νουκλεοτίδια, 40 από τα οποία περιέχουν αδενίνη.
α. Ποιος ο αριθμός των άλλων βάσεων του κομματιού Α;
β. Ποιος είναι ο αριθμός των φωσφοδιεστερικών δεσμών στο κομμάτι Α;
γ. Πόσοι δεσμοί υδρογόνου συγκρατούν τις συμπληρωματικές αλυσίδες του κομματιού Α;
δ. Ποιος ο αριθμός του κάθε είδους βάσεων στο κομμάτι Β αν το αρχικό μόριο περιείχε 400 φωσφοδιεστερικούς δεσμούς και 85 αδενίνες;

10. Δίνεται η παρακάτω αλληλουχία νουκλεοτιδίων ενός τμήματος δίκλωνου DNA που περιέχει ένα γονίδιο υπεύθυνο για την σύνθεση ενός ολιγοπεπτιδίου.

5’ T T T C T C G A G A T G C C C T T A C G C G A A T T C C G C C A A C A T G G G G A A T T C C C C C T C G A G A A A 3’

3 A A A G A G C T C T A C G G G A A T G C G C T T A A G G C G G T T G T A C C C C T T A A G G G G G A G C T C T T T 5’

α. Πόσα και ποια κομμάτια θα προκύψουν με τη χρήση της EcoRI στο παρακάτω μόριο;
β. Αν χρησιμοποιήσουμε μαζί με την EcoRI και μία άλλη περιοριστική ενδονουκλεάση την Xho I που αναγνωρίζει και κόβει την ακόλουθη αλληλουχία νουκλεοτιδίων
5’ C TC G A G 3’
3’ G A G C T C 5’ μεταξύ C και T.
Πόσα κομμάτια θα προκύψουν από την δράση και των δύο περιοριστικών ενδονουκλεασών στο παραπάνω μόριο DNA και ποια θα είναι η αλληλουχία τους;
γ. Αν θέλουμε να κλωνοποιήσουμε το μεταφράσιμο τμήμα του μορίου του DNA ποια περιοριστική ενδονουκλεάση θα χρησιμοποιήσουμε;

5ο ΛΥΚΕΙΟ ΣΥ