

4.1

α. Το τεχνητό θρεπτικό υλικό της καλλιέργειας περιείχε πηγή άνθρακα, πηγή αζώτου και μεταλλικά ιόντα διαλυμένα στο νερό. Το θρεπτικό υλικό στερεοποιήθηκε με τη χρήση του πολυσακχαρίτη άγαρ. (Επίσης, στο θρεπτικό υλικό προστέθηκε το αντιβιοτικό αμπικιλίνη για την επιλογή των μετασχηματισμένων βακτηρίων). Μετά τον εμβολιασμό με τα βακτήρια, η καλλιέργεια τοποθετήθηκε στους 37°C, θερμοκρασία στην οποία αναπτύσσονται άριστα τα βακτήρια αυτά.

β. Όλες οι αποικίες 1 – 9 περιλαμβάνουν μετασχηματισμένα βακτήρια. Τα βακτήρια που δεν μετασχηματίστηκαν, δηλαδή δεν προσέλαβαν πλασμίδιο, είναι ευαίσθητα στην αμπικιλίνη και συνεπώς, δεν αναπτύχθηκαν παρουσία αυτού του αντιβιοτικού που υπήρχε στο θρεπτικό υλικό της καλλιέργειας. Όταν το γονίδιο του ανθρώπινου ενζύμου ενσωματώνεται μέσα στο γονίδιο GFP, το γονίδιο αυτό “απενεργοποιείται” με αποτέλεσμα να μην παράγεται η πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη. Άρα, όσα βακτήρια μετασχηματίστηκαν με αυτό το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο, εντοπίζονται στις αποικίες που δεν εκπέμπουν πράσινο φθορισμό, δηλαδή στις αποικίες 1, 3, 6 και 8.

4.2

α. Η σειρά των κωδικονίων του mRNA με τα οποία θα συνδεθούν τα tRNA κατά τη διαδικασία της μετάφρασης, είναι:

5' AUG UAC UGG ACA CAG AAA UUC 3'.

Συγκρίνοντας τις αλληλουχίες των δύο αλυσίδων και λαμβάνοντας υπόψη ότι το mRNA και η κωδική αλυσίδα του γονιδίου έχουν τον ίδιο προσανατολισμό και την ίδια αλληλουχία βάσεων (με τη διαφορά ότι το νουκλεοτίδιο της U στο mRNA είναι νουκλεοτίδιο της T στην κωδική αλυσίδα), εντοπίζουμε τα κωδικόνια στην πάνω αλυσίδα, τα οποία διακόπτονται από την αλληλουχία του εσωνίου 5' CCCATC 3'. Συνεπώς, η αλυσίδα με άκρα I και II είναι η κωδική, με προσανατολισμό: I – 5', II – 3' και επειδή οι δύο αλυσίδες είναι αντιπαράλληλες, η αλυσίδα με άκρα III και IV είναι η μη κωδική με προσανατολισμό III – 3' και IV – 5'.

β. Τα περισσότερα γονίδια των ευκαρυωτικών οργανισμών είναι ασυνεχή ή διακεκομμένα, με αποτέλεσμα από τη μεταγραφή τους να προκύπτει πρόδρομο mRNA, το οποίο υφίσταται διαδικασία ωρίμανσης και μετατρέπεται σε ώριμο πριν

εξέλθει από τον πυρήνα για να μεταφραστεί. Επομένως, το mRNA που εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα των μυϊκών κυττάρων στα οποία εκφράζεται το γονίδιο, θα είναι το ώριμο mRNA, η αλληλουχία του οποίου θα είναι:

5'-CUGAU AUG UAC UGG ACA CAG AAA UUC UGA CG-3'.

γ. Επειδή το ανθρώπινο γονίδιο είναι ασυνεχές και τα βακτήρια, ως προκαρυωτικοί οργανισμοί, δεν διαθέτουν αντίστοιχους μηχανισμούς ωρίμανσης του πρόδρομου mRNA, θα χρησιμοποιηθούν αντίγραφα του γονιδίου από cDNA βιβλιοθήκη.