

Κεφάλαιο 4: Ανασυνδυασμένο DNA

➤ ΕΛΕΓΧΟΣ ΓΝΩΣΕΩΝ

1. Ποια η χρησιμότητα της ανάπτυξης της γενετικής μηχανικής;
 2. Ποιες οι εφαρμογές της τεχνικής του ανασυνδυασμένου DNA;
 3. Αναφέρατε τα στάδια εφαρμογής της τεχνικής του ανασυνδυασμένου DNA.
 4. Τι ονομάζουμε κλώνο;
 5. Ποια πρόταση από τις παρακάτω δεν ισχύει για τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες;
 - α. η ανακάλυψη τους επέτρεψε την ανάπτυξη τεχνολογίας ανασυνδυασμένου DNA.
 - β. παράγονται από βακτήρια
 - γ. κόβουν το μόριο του DNA σε ειδική αλληλουχία βάσεων
 - δ. καταλύουν την ενσωμάτωση τμημάτων DNA σε πλασμίδιο.
 6. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες έχουν τη δυνατότητα να κόβουν
 - α. πλασμίδια σε κατάλληλη θέση
 - β. το «ξένο» DNA που εισβάλλει σε ένα βακτήριο
 - γ. το γονιδίωμα ενός οργανισμού σε κατάλληλες θέσεις
 - δ. όλα όσα περιγράφονται στα α, β και γ.
 7. Μετασηματισμός ονομάζεται
 - α. η ενσωμάτωση ενός τμήματος DNA σε ένα πλασμίδιο
 - β. η διαδικασία δημιουργίας κλώνων βακτηρίων
 - γ. η διαδικασία εισαγωγής ανασυνδυασμένων πλασμιδίων σε βακτήρια
 - δ. η διαδικασία επιλογής των κλώνων κατά την τεχνική του ανασυνδυασμένου DNA
 8. Πώς απομονώνονται τα βακτήρια στα οποία έχει εισχωρήσει ανασυνδυασμένο DNA από τα υπόλοιπα βακτήρια;
 9. Αναφέρατε δύο ένζυμα που μετέχουν στη διαδικασία της τεχνικής του ανασυνδυασμένου DNA και προσδιορίστε το ρόλο τους.
 10. Γιατί η διαδικασία της κοπής του πλασμιδίου και του DNA του ανώτερου οργανισμού σε τμήματα γίνεται με την ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση;
 11. Αντιστοιχείστε τις έννοιες της πρώτης στήλης με τις προτάσεις της δεύτερης στήλης:
 - α. Εισαγωγή ανασυνδυασμένου DNA σε κύτταρο
 - β. Τεχνικές παρέμβασης του ανθρώπου στο γενετικό υλικό
 - γ. Επιλογή βακτηριακού κλώνου που περιέχει το επιθυμητό τμήμα DNA
 - δ. Κατασκευή μεγάλου αριθμού βακτηρίων με όμοιες ιδιότητες
 1. Γενετική μηχανική
 2. Μετασηματισμός
 3. Κλωνοποίηση
12. Η επιλογή των κλώνων που έχουν το επιθυμητό γονίδιο θα γίνει με:
 - α. DNA δεσμάση
 - β. ειδικούς ανιχνευτές
 - γ. ειδικούς φορείς
 - δ. περιοριστική ενδονουκλεάση
13. Ειδικοί φορείς στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA χρησιμοποιούνται:
 - α. πλασμίδια και ειδικοί φάγοι
 - β. μόνο βακτηριοφάγοι λ
 - γ. γονιδιώματα βακτηρίων
 - δ. κύτταρα του οργανισμού που περιέχουν το επιθυμητό γονίδιο.
14. Το ένζυμο EcoRI κόβει την αλυσίδα του γονιδιώματος ενός ευκαρυωτικού κυττάρου στις θέσεις μεταξύ G και A. Έτσι προκύπτουν
 - α. πολλά διαφορετικά τμήματα DNA, που μπορούν να συνδεθούν με το πλασμίδιο φορέα
 - β. πολλά τμήματα DNA από τα οποία μόνο ένα συνδέεται με το πλασμίδιο φορέα
 - γ. δύο διαφορετικά τμήματα DNA, από τα οποία μόνο ένα συνδέεται με το πλασμίδιο φορέα
 - δ. χιλιάδες τμήματα DNA με τον ίδιο αριθμό νουκλεοτιδίων, που μπορούν να συνδεθούν με το πλασμίδιο φορέα
15. Συνήθως για παραγωγή ανασυνδυασμένου DNA χρησιμοποιούμε βακτήρια χωρίς πλασμίδια, και εισάγουμε σε αυτά ανασυνδυασμένα πλασμίδια που περιέχουν γονίδιο που προσδίδει ανθεκτικότητα σε κάποιο αντιβιοτικό. Αυτό γίνεται γιατί διευκολύνεται
 - α. ο μετασηματισμός των βακτηρίων
 - β. η επιλογή των βακτηρίων που έχουν ανασυνδυασμένο DNA από τα άλλα που δεν έχουν
 - γ. η επιλογή κλώνου που περιέχει το επιθυμητό τμήμα DNA.
 - δ. ο ανασυνδυασμός του DNA
16. Γιατί συνήθως τα βακτήρια ξενιστές στα οποία εισάγεται το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο κατά την τεχνική του ανασυνδυασμένου DNA δεν έχουν δικό τους πλασμίδιο;
17. Τι είναι οι cDNA βιβλιοθήκες και με ποια τεχνική κατασκευάζονται;
18. Ποια τα πλεονεκτήματα των cDNA βιβλιοθηκών σε σχέση με τις γονιδιωματικές βιβλιοθήκες;

19. Τοποθετείστε σε χρονική σειρά τις παρακάτω διεργασίες κατασκευής cDNA βιβλιοθήκης
- Σύνθεση από τους κλώνους cDNA των συμπληρωματικών κλώνων DNA και παραλαβή δίκλωνων μορίων DNA.
 - Παραγωγή υβριδικών μορίων mRNA-cDNA
 - Απομόνωση συνολικού mRNA κυττάρου
 - Αποδιάταξη υβριδικών μορίων mRNA-cDNA
20. Ποια η διαφορά μεταξύ γονιδιωματικής βιβλιοθήκης και cDNA βιβλιοθήκης;
21. Τι είναι η διαδικασία αποδιάταξης του DNA και πώς επιτυγχάνεται;
22. Περιγράψτε τη διαδικασία με την οποία με κατάλληλους ειδικούς ανιχνευτές μπορούμε να βρούμε τους κλώνους που περιέχουν το επιθυμητό γονίδιο σε μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη.
23. Τι είναι η μέθοδος αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και ποιες οι εφαρμογές της;
24. Ποιες από τις παρακάτω προτάσεις είναι σωστές(Σ) και ποιες λάθος(Λ);
- Το ένζυμο EcoRI αναγνωρίζει την αλληλουχία βάσεων GAATTC και την κόβει μεταξύ A και G.
 - Με τη μέθοδο PCR αντιγράφουμε ειδικές αλληλουχίες DNA in vitro.
 - Ως φορέας κλωνοποίησης χρησιμοποιείται το DNA πρωτόζωων.
 - Μετά το μετασχηματισμό των κυττάρων ξενιστών μπορεί αμέσως να αρχίσει η παραγωγή της πρωτεΐνης που περιέχεται στο ανασυνδυασμένο DNA.
 - Σχεδόν όλο το DNA του οργανισμού δότη ανασυνδυάζεται με τα πλασμίδια
 - Ως φορείς κλωνοποίησης χρησιμοποιούνται πλασμίδια, βακτηριοφάγοι
 - Σε πλασμίδια ενσωματώνονται συνήθως μεγαλύτερα κομμάτια DNA του οργανισμού δότη σε σχέση με τους βακτηριοφάγους λ
 - Η μέθοδος PCR μας επιτρέπει να αντιγράψουμε χιλιάδες φορές όλες τις αλληλουχίες DNA που περιέχονται σε ένα μίγμα

ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

Συμπληρώστε τις έννοιες στις οποίες αντιστοιχούν οι παρακάτω προτάσεις:

- Ονομασία μιας περιοριστικής ενδονουκλεάσης :
- Χαρακτηρισμός μορίου DNA που προκύπτει από τη σύνδεση κομματιών DNA, τα οποία προέρχονται από διαφορετικούς οργανισμούς:
- Η μεταφορά του ανασυνδυασμένου μορίου DNA σε ένα κύτταρο ξενιστή:
- Πληθυσμός ομοίων κυττάρων ή οργανισμών που παράγονται από επαναλαμβανόμενες διαιρέσεις ενός μόνο κυττάρου ή οργανισμού:
- Το σύνολο των βακτηριακών κλώνων που περιέχουν το συνολικό DNA του οργανισμού δότη κατά την τεχνική του ανασυνδυασμένου DNA:
- Μόριο DNA, κυρίως βακτηριοφάγου ή πλασμιδίου, το οποίο χρησιμοποιείται για να μεταφέρει ένα κομμάτι DNA σε ένα κύτταρο δέκτη με σκοπό την κλωνοποίηση γονιδίων:
- Πρωτεΐνες που κόβουν τα μόρια του DNA σε συγκεκριμένες θέσεις:
- Ένζυμα που συνδέουν κομμάτια του DNA με συμπληρωματικά άκρα:
- Κυκλικά μόρια DNA των βακτηρίων με χρήση στη τεχνική του ανασυνδυασμένου DNA:
- Ένας ιός που χρησιμοποιείται σαν φορέας κλωνοποίησης:
- Το σύνολο των τεχνικών που χρησιμοποιεί ο άνθρωπος για να επεμβαίνει στο γενετικό υλικό:
- Η ιδιότητα σύνδεσης δύο συμπληρωματικών μονόκλωνων νουκλεϊκών αλυσίδων με υδρογονικούς δεσμούς:
- Το σύνολο των DNA αντιγράφων του ολικού mRNA που παράγεται από ένα κύτταρο:
- Η καταστροφή της διπλής έλικας του DNA με τη διάσπαση των υδρογονικών δεσμών που συγκρατούν τις δύο συμπληρωματικές αλυσίδες του: