

4.1

α. Παρακάτω παρατίθενται η κωδική και η μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου με τους προσανατολισμούς τους:

Κωδική: 5'...AACGATATGTTTCCCGGGGAGGTTCCATGGATGTAAGACTGA...3' αλυσίδα I

Μη Κωδική: 3'...TTGCTATACAAAGGGCCCTCCAAGGTACCTACATTCTGACT...5' αλυσίδα II

Πρόδρομο mRNA: 5'...AACGAUAUGUUUCCCGGGGAGGUUCCAUGGAUGUAAGACUGA...3'

β. Το ώριμο mRNA προκύπτει από το πρόδρομο mRNA αφού αφαιρεθεί το εσώνιο (όπως επισημαίνεται παρακάτω). Συνεπώς:

Πρόδρομο mRNA: 5'...AACGAU AUG UUU CCCGGGGAG GUU CCA UGG AUG UAA GACUGA...3'

Όριμο mRNA: 5'...AACGAU **AUG UUU GUU CCA UGG AUG UAA** GACUGA...3'

Το αρχικό προϊόν της μετάφρασης είναι:

H₂N - μεθειονίνη-φαινυλαλανίνη - βαλίνη - προλίνη - τρυπτοφάνη -μεθειονίνη- COOH

Συγκρίνοντας το αρχικό προϊόν της μετάφρασης με το τελικό (H₂N - φαινυλαλανίνη - βαλίνη - προλίνη - τρυπτοφάνη -μεθειονίνη - COOH) συμπεραίνουμε ότι έχει αφαιρεθεί η αρχική μεθειονίνη από το αμινικό άκρο του πεπτιδίου.

Αρχικά, η διαδικασία της μεταγραφής, δηλαδή η σύνθεση του πρόδρομου mRNA, πραγματοποιείται στον πυρήνα. Ακολουθεί η ωρίμανση του πρόδρομου mRNA και η μετατροπή του σε ώριμο mRNA (αποκοπή εσωνίων και συρραφή εξωνίων), διαδικασία που, επίσης, πραγματοποιείται στον πυρήνα από τα μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια. Το ώριμο mRNA φεύγει από τον πυρήνα και φτάνει στις θέσεις παραγωγής των πρωτεϊνών, δηλαδή στα ριβοσώματα (που βρίσκονται είτε ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα είτε στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο), για να πραγματοποιηθεί η διαδικασία της μετάφρασης.

4.2

α. Κατάλληλο είναι τόσο το πλασμίδιο A όσο και το πλασμίδιο B γιατί δεν αναφέρεται ποια περιοριστική ενδονουκλεάση θέλουμε να χρησιμοποιήσουμε. Αν χρησιμοποιούσαμε την EcoRI θα ήταν κατάλληλο το A γιατί περιέχει την αλληλουχία αναγνώρισης της περιοριστικής ενδονουκλεάσης EcoRI με τον σωστό προσανατολισμό, δηλαδή την αλληλουχία:

5'-G/AATTC-3'

3'-CTTAA/G-5'

Αν όμως επιλέγαμε κάποια άλλη περιοριστική ενδονουκλεάση, θα μπορούσε να είναι κατάλληλο και το πλασμίδιο Β.

Για να εκφραστεί το ευκαρυωτικό αυτό γονίδιο, θα πρέπει να ενσωματωθεί μετά από έναν ενεργό βακτηριακό υποκινητή με κατάλληλο προσανατολισμό και να υπάρχουν οι κατάλληλες αλληλουχίες λήξης της μεταγραφής μετά από αυτό.

β. Μπορούμε να διακρίνουμε δύο περιπτώσεις: Αν το γονίδιο που έχει ενσωματωθεί είναι ασυνεχές δεν θα παραχθεί το ίδιο προϊόν διότι, ακόμα κι αν ο ανασυνδυασμός πραγματοποιηθεί με το σωστό προσανατολισμό (το γονίδιο μπορεί να ενσωματωθεί στο πλασμίδιο με δύο τρόπους), δεν υπάρχει δυνατότητα αφαίρεσης του εσωνίου από το παραγόμενο mRNA, καθώς οι προκαρυωτικοί οργανισμοί δεν έχουν τη δυνατότητα ωρίμανσης του πρόδρομου mRNA. Επιπρόσθετα, μία πρωτεΐνη για να γίνει λειτουργική μπορεί να χρειάζεται περαιτέρω τροποποιήσεις, πχ αποκοπή αμινοξέων. Αν το γονίδιο που έχει ενσωματωθεί είναι συνεχές, μπορεί να παραχθεί το ίδιο προϊόν εφόσον ο ανασυνδυασμός πραγματοποιηθεί με το σωστό προσανατολισμό και εφόσον το πεπτίδιο που παράγεται δεν χρειάζεται τροποποιήσεις μετά τη μετάφραση.