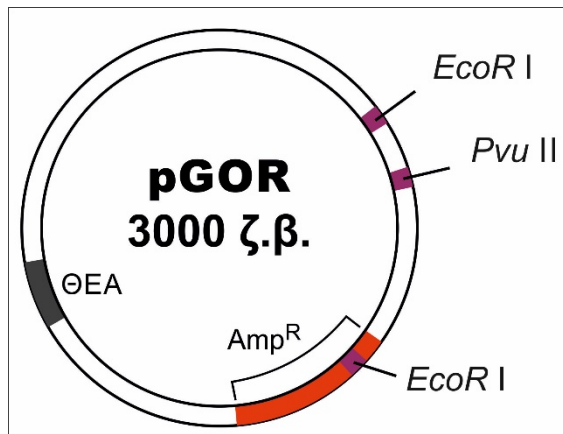


Golden Rice

Για εκατομμύρια ανθρώπους, το ρύζι αποτελεί τη βασικότερη πηγή διατροφής. Ωστόσο, το ρύζι στερείται καροτενοειδών, δηλαδή χημικών ενώσεων που μετατρέπονται σε β-καροτένιο, πρόδρομη ένωση της βιταμίνης Α. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, εκατομμύρια άνθρωποι να υποφέρουν από ανεπάρκεια σε βιταμίνη Α. Το ρύζι δε μπορεί να βιοσυνθέσει β-καροτένιο, γιατί στερείται δύο από τα ένζυμα που συμμετέχουν στη βιοσύνθεσή του. Για το σκοπό αυτό, οι επιστήμονες κατασκεύασαν διαγονιδιακό ρύζι που φέρει όλα τα απαραίτητα ένζυμα για τη βιοσύνθεση του β-καροτένιου. Αυτό το κατόρθωσαν χρησιμοποιώντας ανασυνδυασμένα πλασμίδια *Ti* του βακτηρίου *Agrobacterium tumefaciens*. Το διαγονιδιακό ρύζι ονομάζεται Golden Rice, γιατί φέρει κίτρινους κόκκους ρυζιού με υψηλή περιεκτικότητα σε β-καροτένιο.

Για τη δημιουργία του Golden Rice κατασκευάστηκαν δύο διαφορετικά ανασυνδυασμένα πλασμίδια *Ti*. Το πρώτο από αυτά τροποποιήθηκε ώστε να περιέχει το γονίδιο *crt1* μεγέθους 1100 ζευγών βάσεων από το βακτήριο *Escherichia uredonvora*. Το δεύτερο πλασμίδιο *Ti* τροποποιήθηκε ώστε να περιέχει το γονίδιο *psy2*. Θέλετε να ανακατασκευάσετε το πρώτο από τα παραπάνω τροποποιημένα πλασμίδια *Ti*.

Για το σκοπό αυτό, αρχικά θα κατασκευάσετε μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη του βακτηρίου *E. uredonvora* σε κύτταρα *E. coli*. Στη διάθεσή σας έχετε το χρωμοσωμικό DNA του βακτηρίου *E. uredonvora*. Ως φορέα κλωνοποίησης θα χρησιμοποιήσετε το πλασμίδιο *pGOR*, ο χάρτης του οποίου φαίνεται στο σχήμα που ακολουθεί:



Σας δίνεται η αλληλουχία αναγνώρισης της περιοριστικής ενδονουκλεάσης *PvuII*:

Επιπλέον, στη διάθεσή σας έχετε οποιαδήποτε άλλη περιοριστική ενδονουκλεάση θέλετε.

PvuII: 5' - CAG | CTG - 3'
3' - GTC | GAC - 5'

1. Ποιο ένζυμο θα χρησιμοποιήσετε για την πέψη του πλασμιδίου *pGOR*;

2. Ποιο ένζυμο θα χρησιμοποιήσετε για την πέψη του χρωμοσωμικού DNA του βακτηρίου *E. uredonora*;

Στη συνέχεια, μετασχηματίζετε κύτταρα *E.coli* με το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο για την κατασκευή της γονιδιωματικής βιβλιοθήκης.

3. Πώς σκοπεύετε να επιλέξετε τα μετασχηματισμένα από τα μη μετασχηματισμένα κύτταρα *E. coli*;

4. Απομονώνετε το πλασμίδιο *pGOR* από ένα μετασχηματισμένο βακτηριακό κλώνο *E. coli*. Με κατάλληλη τεχνική βρίσκετε ότι το μέγεθός του ανέρχεται σε 3000 ζεύγη βάσεων. Τι συμπέρασμα βγάζετε;