

Όνομα: _____

Ημερομηνία: _____

βιότοπος

www.edubiosite.gr

φύλλο εργασίας

Οπερόνιο λακτόζης και ανασυνδυασμένο DNA

Θέλετε να μετασχηματίσετε τα βακτήρια ενός μεταλλαγμένου στελέχους *E.coli* που αδυνατούν να χρησιμοποιήσουν τη λακτόζη ως πηγή άνθρακα, εξαιτίας μιας μετάλλαξης που απενεργοποίησε κάποιο από τα δομικά γονίδια του **οπερόνιου της λακτόζης**. Διαθέτετε δύο πλασμίδια. Το πλασμίδιο 1 περιέχει το φυσιολογικό αλληλόμορφο του δομικού γονιδίου του οπερόνιου της λακτόζης, ενώ το πλασμίδιο 2 περιέχει το γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό *αμπικιλίνη*.

1. Πώς μπορείτε να εισάγετε και τα δύο γονίδια στο ίδιο βακτήριο του μεταλλαγμένου στελέχους *E.coli*, πραγματοποιώντας τη διαδικασία του μετασχηματισμού μία μόνο φορά; Εξηγήστε.

2. Τι υλικά θα χρειαστείτε για να πραγματοποιήσετε την κατασκευή του ερωτήματος 1;

Διαθέτετε υγρή καλλιέργεια βακτηρίων του μεταλλαγμένου στελέχους *E.coli*, όπου το θρεπτικό υλικό περιέχει γλυκόζη ως μοναδική πηγή άνθρακα. Μοιράζετε την καλλιέργεια σε δύο δοκιμαστικούς σωλήνες. Στο Σωλήνα 1 προσθέτετε υψηλή συγκέντρωση διαλύματος του μορίου που κατασκευάσατε, ενώ στο Σωλήνα 2 δεν προσθέτετε τίποτα. Επωάζετε το περιεχόμενο των δοκιμαστικών σωλήνων κάτω από κατάλληλες συνθήκες για βακτηριακή αύξηση και εισαγωγή του πλασμιδίου. Στη συνέχεια, εμβολιάζετε τρία δοχεία καλλιέργειας που περιέχουν διαφορετικό στερεό θρεπτικό υλικό (γλυκόζη, γλυκόζη + αμπικιλίνη, λακτόζη + αμπικιλίνη) με το περιεχόμενο των δύο δοκιμαστικών σωλήνων, όπως σας υποδεικνύεται στο παρακάτω διάγραμμα:

	Θρεπτικό υλικό που περιέχει Γλυκόζη	Θρεπτικό υλικό που περιέχει Γλυκόζη και Αμπικιλίνη	Θρεπτικό υλικό που περιέχει Λακτόζη και Αμπικιλίνη
Σωλήνας 1	1	2	3
Σωλήνας 2	4	5	6

3. Σε ποιο/-α δοχείο/-α καλλιέργειας (1 – 6) περιμένετε να δείτε αποικίες; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας. (Θεωρήστε ότι δεν έχουν συμβεί μεταλλάξεις).

4. Σε περίπτωση που η αρχική σας κατασκευή δεν είναι επιτυχής, σε ποιο/-α δοχείο/-α καλλιέργειας (1 – 6) είναι σίγουρο ότι θα δείτε αποικίες;

5. Σε περίπτωση που η αρχική σας κατασκευή δεν είναι επιτυχής, σε ποιο/-α δοχείο/-α καλλιέργειας (1 – 6) υπάρχει ένα μικρό ενδεχόμενο να δείτε αποικίες; Εξηγήστε. (Θεωρήστε ότι δεν έχουν συμβεί μεταλλάξεις).

Έπειτα, εμβολιάζετε δύο δοχεία καλλιέργειας που περιέχουν διαφορετικό στερεό θρεπτικό υλικό (λακτόζη, λακτόζη + αμπικιλίνη) με το περιεχόμενο των δύο δοκιμαστικών σωλήνων, όπως σας υποδεικνύεται στο παρακάτω διάγραμμα:

	Θρεπτικό υλικό που περιέχει Λακτόζη	Θρεπτικό υλικό που περιέχει Λακτόζη και Αμπικιλίνη
Σωλήνας 1	7	8
Σωλήνας 2	9	10

6. Σε ποιο/-α δοχείο/-α καλλιέργειας (7 – 10) περιμένετε να δείτε αποικίες; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας. (Θεωρήστε ότι δεν έχουν συμβεί μεταλλάξεις).

7. Σε περίπτωση που η αρχική σας κατασκευή δεν είναι επιτυχής, σε ποιο/-α δοχείο/-α καλλιέργειας (7 – 10) υπάρχει ένα μικρό ενδεχόμενο να δείτε αποικίες; Εξηγήστε. (Θεωρήστε ότι δεν έχουν συμβεί μεταλλάξεις).