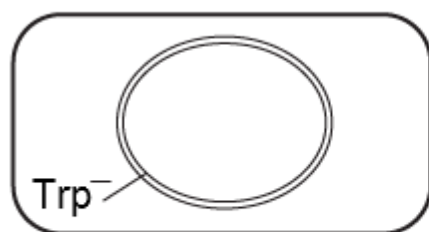


Μεταφορά γονιδίου τρυπτοφάνης

Διαθέτετε υγρή καλλιέργεια κυττάρων του στελέχους *DH5A* του βακτηρίου *E.coli*. Εξαιτίας μιας μετάλλαξης απώλειας λειτουργίας του γονιδίου *Trp* (*Trp*⁻) στο βακτηριακό του χρωμόσωμα, η οποία δημιουργεί υπολειπόμενο φαινότυπο, τα κύτταρα του στελέχους αυτού αδυνατούν να αναπτυχθούν, όταν απουσιάζει το αμινοξύ *τρυπτοφάνη* από το θρεπτικό υλικό. Με κατάλληλους χειρισμούς Γενετικής Μηχανικής, κατορθώνετε να εισάγετε στα βακτηριακά κύτταρα του παραπάνω στελέχους το πλασμίδιο *pAN510*. Το πλασμίδιο αυτό περιέχει το γονίδιο βιοσύνθεσης της τρυπτοφάνης (*Trp*⁺) και το γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό στρεπτομυκίνη (*StrR*).



Βακτηριακό χρωμόσωμα



Πλασμίδιο pAN510

1. Πώς ονομάζεται η διαδικασία εισαγωγής του πλασμιδίου *pAN510* στο κύτταρο *E.coli*;

2. Ποιες προϋποθέσεις πρέπει να πληρούν τα βακτήρια *E.coli* που θα υποστούν τη διαδικασία του ερωτήματος 1;

3. Ποια είναι τα γονίδια που περιέχονται στα πλασμίδια;

4. Η παραπάνω διαδικασία δεν πραγματοποιείται με απόδοση 100%. Τι σημαίνει πρακτικά αυτό;

5. Πώς θα διαπιστώσετε την επιτυχία ή μη της πειραματικής διαδικασίας που πραγματοποιήσατε; Εξηγήστε.

6. Υποθέστε ότι κάποια κύτταρα του στελέχους *DH5A* του βακτηρίου *E.coli* αποκαθιστούν την τροφική τους απαίτηση για το αμινοξύ τρυπτοφάνη μέσω της διαδικασίας που ακολουθήσατε. Ποιοι μοριακοί μηχανισμοί οδήγησαν σε αυτό το αποτέλεσμα; Εξηγήστε.

7. Παράλληλα με την προηγούμενη διαδικασία, εμβολιάζετε θρεπτικό που δεν περιέχει αμινοξέα με κύτταρα του μεταλλαγμένου στελέχους *DH5A* της αρχικής υγρής καλλιέργειας. Προς έκπληξή σας, παρατηρείτε το σχηματισμό μικρού αριθμού αποικιών. Πώς εξηγείτε το φαινόμενο αυτό;

8. Προσθέτετε υγρή καλλιέργεια κυττάρων του στελέχους *DH5A* σε υγρή καλλιέργεια κυττάρων του στελέχους *DH5B* του βακτηρίου *E.coli*. Τα τελευταία φέρουν πλασμίδιο που περιέχει το γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό τετρακυκλίνη (*TetR*). Προσθέτετε στην κοινή καλλιέργεια τα αντιβιοτικά *στρεπτομυκίνη* και *τετρακυκλίνη* και παρατηρείτε ότι μερικά βακτήρια καταφέρνουν να επιβιώσουν. Πώς συνέβη αυτό; Εξηγήστε.