

Εμβόλιο κατά ιού

Έχετε ξεκινήσει την παραγωγή εμβολίου για την καταπολέμηση ενός συγκεκριμένου DNA ιού που προκαλεί νόσο στον άνθρωπο. Αρχικά, πρέπει να εξετάσετε τα ιικά γονίδια για τον εντοπισμό εκείνων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πιθανά αντιγόνα για τη δημιουργία αυτού του εμβολίου. Για τον εντοπισμό των γονιδίων ακολουθείτε την παρακάτω διαδικασία:

- Απομόνωση του γονιδιώματος του ιού.
- Τεμαχισμός του γονιδιώματος χρησιμοποιώντας μία συγκεκριμένη και κατάλληλη-περιοριστική ενδονουκλεάση.
- Κλωνοποίηση των τμημάτων του ιικού DNA σε ειδικό φορέα κλωνοποίησης για τη δημιουργία γονιδιωματικής βιβλιοθήκης.
- Επιλογή των βακτηρίων με τους κλώνους που παράγουν τα κατάλληλα αντιγόνα από τα αντίστοιχα ιικά γονίδια.

1. Γιατί θα κάνετε μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη του ιού, αντί μιας cDNA βιβλιοθήκης, για την εξέταση των ιικών γονιδίων;

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται οι αλληλουχίες αναγνώρισης τεσσάρων περιοριστικών ενδονουκλεασών X, K, Z και N, καθώς και τα σημεία δράσης κάθε ενζύμου.

ένζυμο X	ένζυμο K	ένζυμο Z	ένζυμο N
$\begin{array}{ccccccc} 5' & C & C & \underline{C} & G & G & 3' \\ 3' & G & G & G & C & C & 5' \end{array}$	$\begin{array}{ccccccc} 5' & T & C & \underline{C} & G & G & A & 3' \\ 3' & A & G & G & C & G & T & 5' \end{array}$	$\begin{array}{ccccccc} 5' & T & \underline{T} & C & G & A & A & 3' \\ 3' & A & A & G & C & T & T & 5' \end{array}$	$\begin{array}{ccccccc} 5' & T & C & C & \underline{G} & G & G & 3' \\ 3' & A & G & G & C & C & C & 5' \end{array}$

Συνήθως τα θραύσματα DNA που προκύπτουν μετά από τη δράση διαφορετικών ενδονουκλεασών δεν συνδέονται μεταξύ τους. Ωστόσο τα θραύσματα DNA που κόπηκαν με τη δράση των ενζύμων X και K μπορούν να συνδεθούν μεταξύ τους.

2. Με βάση τις αλληλουχίες του πίνακα, να γράψετε την αλληλουχία του δίκλωνου τμήματος DNA των έξι ζευγών βάσεων μετά τη σύνδεση των τμημάτων που κόπηκαν με τις ενδονουκλεάσες X και K.

3. Η αλληλουχία που προέκυψε στο προηγούμενο ερώτημα, είναι δυνατό, να κοπεί με:

(Συμπληρώστε με ΝΑΙ ή ΟΧΙ)

την περιοριστική ενδονουκλεάση X	
την περιοριστική ενδονουκλεάση K	
την περιοριστική ενδονουκλεάση Z	
την περιοριστική ενδονουκλεάση N	

4. Πρόκειται να χρησιμοποιήσετε ένα από τα τρία πλασμίδια του παρακάτω σχήματος ως φορέα κλωνοποίησης για να κατασκευάσετε τη γονιδιωματική βιβλιοθήκη του ιού. Ας υποθέσουμε ότι για την κλωνοποίηση του ιικού DNA χρησιμοποιείται η περιοριστική ενδονουκλεάση X τα θραύσματα του ιικού DNA θα κλωνοποιηθούν στη θέση της αλληλουχίας X. Σχεδιάζετε να κάνετε την επιλογή των μετασχηματισμένων βακτηρίων με το αντιβιοτικό τετρακυκλίνη. Ποιο από τα παρακάτω πλασμίδια είναι ο καλύτερος φορέας κλωνοποίησης; Εξηγήστε την επιλογή σας.

