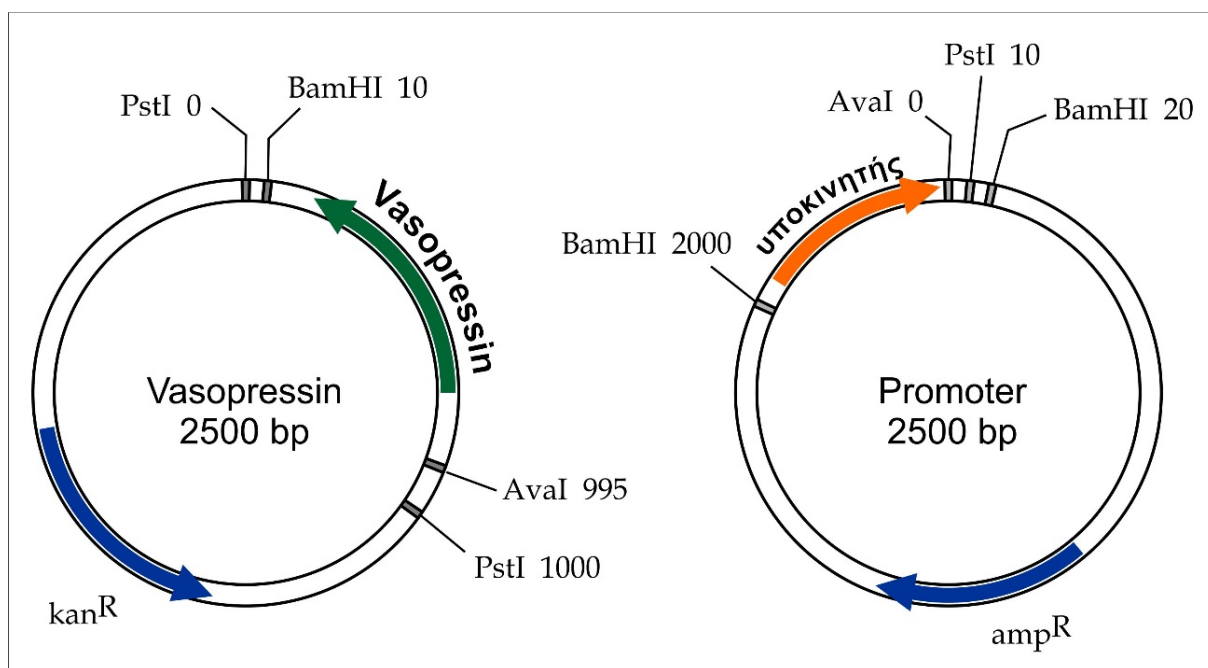


Κλωνοποίηση βασοπρεσίνης

Η βασοπρεσίνη (vasopressin) ή αλλιώς αντιδιουρητική ορμόνη είναι ένα μικρό πεπτιδίο εννέα αμινοξέων που παράγεται στον υποθάλαμο του εγκεφάλου και από τη υπόφυση εκκρίνεται στην κυκλοφορία του αίματος. Παίζει σημαντικό ρόλο στην ομοίωση και στη ρύθμιση του νερού, της γλυκόζης και των αλάτων στο αίμα. Για τη θεραπεία των ασθενών που δεν παράγουν επαρκή ποσότητα βασοπρεσίνης, αποφασίζετε να κλωνοποιήσετε το γονίδιο σε βακτήρια *E. coli*. Η διαδικασία ξεκινάει με την απομόνωση του γονιδίου με τη βοήθεια της PCR το οποίο στη συνέχεια ενσωματώνεται στο πλασμίδιο «Vasopressin» (εικόνα 1). Για τη δημιουργία ενός αποτελεσματικού φορέα έκφρασης της βασοπρεσίνης απαιτείται η μεταφορά του γονιδίου «Vasopressin» από το ένα πλασμίδιο σε ένα άλλο που φέρει ήδη τον κατάλληλο υποκινητή.



Εικόνα 1

Στην εικόνα 1 απεικονίζονται οι χάρτες των δύο πλασμιδίων «Vasopressin» και «Promoter». Το συνολικό μήκος των πλασμιδίων αναγράφεται στο κέντρο του καθενός και υπολογίζεται σε ζεύγη βάσεων (bp). Επίσης σε κάθε πλασμίδιο σημειώνονται οι σχετικές θέσεις των περιοριστικών ενδονουκλεασών. Εξάγουμε το γονίδιο της βασοπρεσίνης από το πλασμίδιο «Vasopressin» με την επίδραση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης *PstI* και το εισάγουμε στο πλασμίδιο «Promoter» στη θέση *PstI*. Τέλος εισάγουμε το τελικό ανασυνδυασμένο πλασμίδιο σε κύτταρα *E. coli*.

Συλλέγουμε τα πλασμίδια από τέσσερις υποψήφιες αποικίες *E. coli* και εξετάζουμε κάθε πλασμίδιο επιδρώντας με καθένα από τα ένζυμα *Pst*I, *Ava*I και *Bam*HI. Στον πίνακα 1 καταγράφονται κατά προσέγγιση τα μεγέθη των τμημάτων DNA που δημιουργήθηκαν. Τμήματα μικρότερα των 100 ζευγών βάσεων δεν καταγράφονται.

Πίνακας 1: περιοριστικές ενδονουκλεάσες												
	<i>Pst</i> I				<i>Ava</i> I				<i>Bam</i> HI			
δείγματα	A	B	Γ	Δ	A	B	Γ	Δ	A	B	Γ	Δ
μεγέθη τμημάτων DNA (ζ.β.Χ10 ³)	2,5 1	2,5 1	2,5 1	2,5 1	2,5 1	2,5 1	3,5	2,5 1	2 1 0,5	2 1 0,5	2 1,5	2 1 0,5

Με βάση τα δεδομένα του πίνακα, ποιο από τα τέσσερα υποψήφια πλασμίδια φέρει το γονίδιο της βασοπρεσίνης με τον ίδιο προσανατολισμό όπως και ο υποκινητής (με βάση την κατεύθυνση των βελών στην εικόνα 1). Αναπτύξτε το σκεπτικό σας.