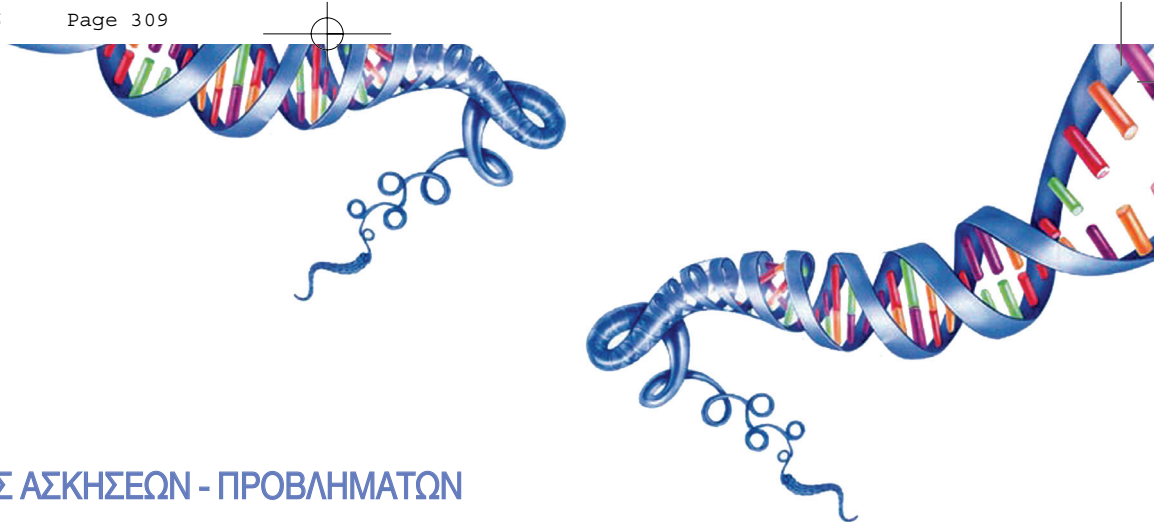


## ΛΥΣΕΙΣ ΑΣΚΗΣΕΩΝ - ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ

### 1

1. α. Η σύσταση του βακτηριακού DNA είναι σύμφωνα με τον κανόνα της συμπληρωματικότητας 30% A, 30% T, 20% G και 20% C. Συνεπώς έχουμε την εξίσωση  $[(0,3 z) \times 2] + [(0,2 z) \times 3] = 2.700$ , όπου 0,3 z οι αδενίνες, 0,2 z οι γουανίνες και z συνολικός αριθμός για τους δεσμούς υδρογόνου των βάσεων στο μόριο DNA. Για να προκύψει ο συνολικός αριθμός δεσμών υδρογόνου πολλαπλασιάζουμε τις αδενίνες επί δύο και τις γουανίνες επί τρία λόγω των δεσμών υδρογόνου μεταξύ A-T και G-C. Από τη λύση της εξίσωσης προκύπτει  $z=2.250$ , που είναι ο αριθμός των αζωτούχων βάσεων.
  - β. Οι πεντόζες είναι επίσης 2.250, αφού κάθε νουκλεοτίδιο αποτελείται από μία αζωτούχο βάση συνδεδεμένη με μία πεντόζη.
  - γ. Επειδή το DNA είναι κυκλικό, ο αριθμός των φωσφοδιεστερικών δεσμών ισούται με αυτόν των βάσεων. Έτσι οι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί είναι 2.250. (Βλέπε υποδειγματικά λυμένες ασκήσεις, άσκηση 1)
2. Ισχύει  $A=T$  και  $G=C$  σε δίκλωνα μόρια DNA. Άρα  $2A+2G=2a+2g$  αφού τα δύο DNA έχουν τον ίδιο αριθμό νουκλεοτιδίων (g, a γουανίνες και αδενίνες αντίστοιχα στο DNA του δεύτερου μήκους). Επομένως  $2(A-a)+2(G-g)=0 \Rightarrow 600+2(G-g)=0 \Rightarrow G-g=-300$  ή  $g-G=300$ . Επομένως η διαφορά των βάσεων γουανίνης των δύο μορίων είναι πάλι 300.
  3. α. Αφού η αδενίνη και η θυμίνη σχηματίζουν δύο δεσμούς υδρογόνου και συνολικά 600, θα ισχύει  $600:2 = 300$  A, άρα και 300 T.
    - β. Απομένουν 2.400 δεσμοί υδρογόνου (δ.Η), άρα αφού κάθε ζεύγος γουανίνης - κυτοσίνης ( $G \equiv C$ ) δημιουργεί 3 δ.Η., θα υπάρχουν 800 ζεύγη  $G \equiv C$  ή 800 γουανίνες.
    - γ. Θα υπάρχουν συνολικά  $300+300+800+800=2.200$  αζωτούχες βάσεις.
  4. Αφού κάθε νουκλεόσωμα αποτελείται από 8 μόρια ιστώνων, θα υπάρχουν  $808:8 = 101$  νουκλεοσώματα. Κάθε νουκλεόσωμα περιέχει 146 ζεύγη βάσεων DNA και συνδέεται με το επόμενο με 34 ζεύγη βάσεων εκτός από το τελευταίο. Άρα  $DNA = [100 \times (146+34)] + 146 = 18.146$  ζεύγη βάσεων. Οπότε έχουμε:  $2A + 3G = 44.438$  και  $2A + 2G = 36.292$ . Λύνοντας το σύστημα παίρνουμε  $G = C = 8.146$  και  $A = T = 10.000$ . (Βλέπε υποδειγματικά λυμένες ασκήσεις, άσκηση 2).

#### \* Συνομογραφίες:

- Όπου φ.δ. = φωσφοδιεστερικοί δεσμοί  
 δ.Η. = δεσμοί υδρογόνου  
 ζ.β. = ζεύγη βάσεων

**5.α.** Πολλαπλασιάζουμε το πλήθος των ζευγών νουκλεοτιδίων με τη μεταξύ τους απόσταση:  $0,34\text{nm} \times 3 \times 10^9 = 10^9\text{nm} = 1\text{m}$  (μετράμε ζεύγη, επειδή τα νουκλεοτίδια βρίσκονται στο ανθρώπινο γονιδίωμα, ανά ζεύγη νουκλεοτιδίων και ένα ζεύγος νουκλεοτιδίων απέχει από το επόμενο του, την ίδια απόσταση που απέχει ένα νουκλεοτίδιο από το επόμενο του, με το οποίο είναι συνδεδεμένο με φωσφοδιεστερικό δεσμό).

Μη ξεχνάτε όμως ότι το ανθρώπινο γενετικό υλικό δεν είναι ένα ενιαίο μόριο, αλλά κατανέμεται σε 23 χρωμοσώματα, άρα σε κάθε χρωμόσωμα έχουμε -2 φ.δ, σε σχέση με το πλήθος των ζευγών νουκλεοτιδίων που το αποτελούν. Οπότε είναι:  $0,34\text{nm} \times [3 \times 10^9 - (23 \times 2)]$ . *Βεβαίως το  $23 \times 2 = 46$  είναι αμελητέο ως προς το  $3 \times 10^9$  και αγνοείται (βλέπε υποδειγματικά λυμένες ασκήσεις, άσκηση 4).*

Ένα μειοκύτταρο είναι διπλοειδές άρα διαθέτει  $6 \times 10^9$  ζεύγη βάσεων. Επομένως για να υπολογίσουμε τα νουκλεοσώματα  $6 \times 10^9 : 146 = 4,1 \times 10^7$  νουκλεοσώματα, και αφού κάθε νουκλεόσωμα αποτελείται από 8 μόρια ιστονών θα είναι:  $4,1 \times 10^7 \times 8 = 32,8 \times 10^7$  ιστόνες. Για το *E.coli* ισχύει  $0,34\text{nm} \times 4,6 \times 10^6 = 15,6 \times 10^5\text{nm} = 1.560\mu\text{m} = 1,56\text{mm}$ . Το γονιδίωμα του *E.coli* δεν αναδιπλώνεται σε νουκλεοσώματα.

**6.** Το Α είναι δίκλωνο κυκλικό DNA βακτηρίου αφού αναφέρεται η ύπαρξη πλασμιδίων που είναι χαρακτηριστικό μόνο των βακτηρίων και ισχύει  $A=T$  και  $G=C$ , το Β είναι μονόκλωνο RNA αφού περιέχει U και τα ποσοστά των συμπληρωματικών βάσεων δεν είναι ίσα (άρα προέρχεται από ιό), το Γ είναι μονόκλωνο DNA, αφού  $A \neq T$  και  $G \neq C$ , (άρα προέρχεται από ιό) και το Δ είναι πιθανά δίκλωνο RNA αφού  $A=U$  και  $G=C$ , επομένως και αυτό μπορεί να αποτελεί μόνο γενετικό υλικό κάποιου ιού.

**7.** Επειδή τα κύτταρα είναι ευκαρυωτικά θα έχουν ως γενετικό υλικό δίκλωνο DNA. Δεδομένου ότι ο λόγος  $\frac{A+T}{G+C}$ , στο δίκλωνο DNA είναι χαρακτηριστικός για κάθε είδος οργανισμού. Τα κύτταρα 1 και 2 δεν είναι κύτταρα του ίδιου οργανισμού.

**8.** Τα τρία πρώτα κύτταρα μπορούν να ανήκουν στον ίδιο οργανισμό, το πρώτο να είναι γαμετικό κύτταρο, το δεύτερο σωματικό κύτταρο στη μεσόφαση πριν την αντιγραφή του DNA και το τρίτο σωματικό κύτταρο στη μετάφαση της μίτωσης. Επίσης το πρώτο και το δεύτερο ή το δεύτερο με το τρίτο μπορεί να ανήκουν στον ίδιο οργανισμό, ως γαμέτης και σωματικό στην αρχή της μεσόφασης ή ως σωματικά κύτταρα πριν και μετά την αντιγραφή του DNA.

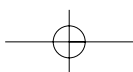
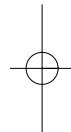
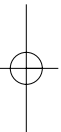
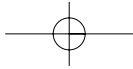
**9. α.** Ο καρυότυπος εξετάζεται στη μετάφαση της μίτωσης, άρα παρατηρούνται μεταφασικά χρωμοσώματα. Αυτά είναι μεν διπλασιασμένα αλλά ίδια σε αριθμό με τα χρωμοσώματα στην αρχή της μεσόφασης. Επομένως στην αρχή της μεσόφασης θα υπάρχουν 44 μόρια DNA, ενώ στην αρχή της μίτωσης (που το DNA έχει διπλασιαστεί) θα υπάρχουν 88 μόρια DNA.

**β.** Ο γαμέτης περιέχει τη μισή ποσότητα DNA ενός σωματικού κυττάρου, άρα 22 μόρια DNA, όλα διαφορετικά μεταξύ τους μορφολογικά.

**10.** Μπορούν να γίνουν  $4^{60}$  συνδυασμοί διαφορετικών αλληλουχιών για το μονόκλωνο RNA (το RNA διαθέτει τέσσερις διαφορετικές βάσεις). Αν το μόριο είναι δίκλωνο τότε είναι δυνατοί  $4^{30}$  συνδυασμοί ζευγών νουκλεοτιδίων.

**11. α.** Αφού στη μία αλυσίδα του δίκλωνου DNA το 25% των βάσεων είναι C και στην άλλη το 15%, το δίκλωνο μόριο θα αποτελείται κατά 20% από γουανίνη  $[(25\% : 2) + (15\% : 2)]$ . Άρα θα είναι  $A=T=30\%$  και  $G=C=20\%$ .

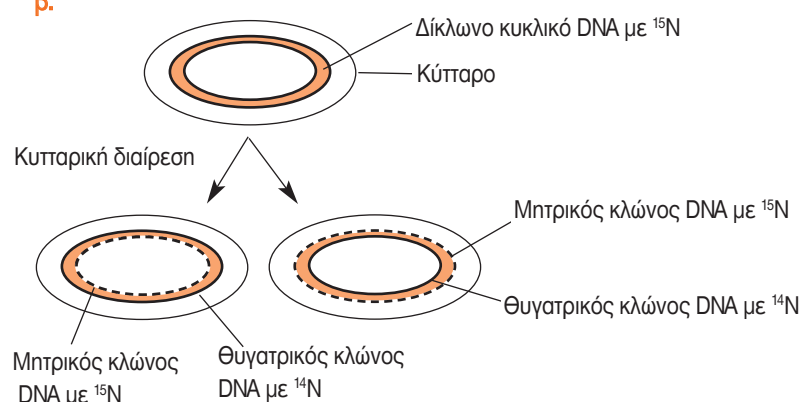
- β.** Αφού το μόριο αποτελείται από 1.000 ζεύγη βάσεων, θα διαθέτει 600 αδενίνες και 600 θυμίνες και 400 γουανίνες και 400 κυτοσίνες. Επομένως θα αναπτύσσονται 2.400 δεσμοί υδρογόνου.
- 12.** Είναι  $A+T/G+C=2$  και  $A=T, G=C, \Rightarrow 2A/2G=2 \Rightarrow A/G=2 \Rightarrow A=2G$  (1). Αφού  $2A+2G=2.100.000$  νουκλεοτίδια  $\Rightarrow A+G=1.050.000$  νουκλεοτίδια και σύμφωνα με την εξίσωση (1) έχουμε:  $3G=1.050.000$  νουκλεοτίδια  $\Rightarrow G=350.000=C, A=T=700.000$ . Επομένως οι δεσμοί υδρογόνου είναι:  $(350.000 \times 3) + (700.000 \times 2) = 2.450.000$
- 13.** Για το DNA Α είναι  $A=T$  και  $G=C$ , άρα το μόριο είναι δίκλωνο, ενώ οι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί είναι ίσοι με τις αζωτούχες βάσεις, άρα το μόριο είναι κυκλικό. Για το DNA Β είναι  $A=T$  και  $G=C$ , άρα το μόριο είναι δίκλωνο, ενώ οι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί είναι 2 λιγότεροι από τις αζωτούχες βάσεις άρα το μόριο είναι γραμμικό. Για το DNA Γ είναι  $A \neq T$  και  $G \neq C$  άρα το μόριο είναι μονόκλωνο, ενώ οι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί είναι ίσοι με τις αζωτούχες βάσεις άρα το μόριο είναι κυκλικό. Για το DNA Δ είναι  $A \neq T$  και  $G \neq C$  άρα το μόριο είναι μονόκλωνο, ενώ οι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί είναι κατά έναν λιγότεροι από τις αζωτούχες βάσεις άρα το μόριο είναι γραμμικό.
- 14.** Στο σωλήνα 2 είναι  $A=T, G=C$  και το DNA ανήκει λογικά στον άνθρωπο ενώ στο σωλήνα 1 είναι  $A \neq T$  και  $G \neq C$ , άρα πρόκειται για μονόκλωνο DNA και προφανώς ανήκει στον ιό.
- 15.** Επειδή  $A=T$  και  $G=C$ , στο δίκλωνο μόριο θα είναι ο ίδιος λόγος και στη συμπληρωματική αλυσίδα και στο μόριο, ενώ ο λόγος  $A+G/C+T = 1$  (βλέπε υποδειγματικά λυμένες ασκήσεις, άσκηση 5).
- 16.** Επειδή σχηματίζονται δεσμοί υδρογόνου το μόριο είναι δίκλωνο RNA. Οι ιοί είναι δυνατό να έχουν γενετικό υλικό δίκλωνο RNA γραμμικό ή κυκλικό.
- α.** Αν το μόριο είναι γραμμικό, τότε ο αριθμός των φωσφοδιεστερικών δεσμών είναι ίσος με τον αριθμό των νουκλεοτιδίων του μορίου -2, οπότε έχουμε:  
 $2U + 2G = 75 \times 10^3 + 2$  (1) και  $2U + 3G = 95 \times 10^3$  (2)  
 Λύνοντας το σύστημα παίρνουμε :  $G=19.998=C$  και  $A=U=17.503$ .
- β.** Αν το μόριο είναι κυκλικό, τότε ο αριθμός των νουκλεοτιδίων του είναι ίσος με τον αριθμό των φωσφοδιεστερικών δεσμών του μορίου, οπότε έχουμε:  
 $2U + 2G = 75 \times 10^3$  (1) και  $2U + 3G = 95 \times 10^3$  (2)  
 και λύνοντας το σύστημα παίρνουμε :  $G=C=20.000$  και  $A=U=17.500$ .  
 Τα μόρια του  $H_2O$  που ελευθερώθηκαν για την δημιουργία του μορίου RNA του ιού είναι όσα και οι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί που δημιουργήθηκαν, δηλαδή  $75 \times 10^3$ .
- 17.** Κάθε νουκλεόσωμα αποτελείται από 146 ζεύγη νουκλεοτιδίων και τα ενδιάμεσα τμήματα μεταξύ των νουκλεοσωμάτων είναι κατά ένα λιγότερα από τα νουκλεοσώματα, γιατί το μόριο είναι γραμμικό. Οπότε αν  $z$  ο αριθμός των νουκλεοσωμάτων έχουμε :  
 $(146z) + [54(z - 1)] = 8 \times 10^7 \Rightarrow z = (8 \times 10^7 + 54) : 200 = 400.054$   
 Δηλαδή απαιτούνται 400.054 νουκλεοσώματα.  
 Επειδή κάθε νουκλεόσωμα αποτελείται από 8 μόρια ιστόνων, θα απαιτούνται 3.200.432 μόρια ι-στόνων (βλέπε υποδειγματικά λυμένες ασκήσεις, άσκηση 2).





1. α. Η ενδιάμεση πυκνότητα του DNA των βακτηρίων τα οποία διπλασιάστηκαν σε θρεπτικό υλικό με  $^{14}\text{N}$  οφείλεται στο ότι κάθε νέο δίκλωνο μόριο DNA αποτελούνταν από μια αλυσίδα με  $^{14}\text{N}$  (νέος κλώνος) και μία με  $^{15}\text{N}$  (μητρικός κλώνος). Επομένως με αυτό το πείραμα αποδείχθηκε ότι καθένας από τους δύο μητρικούς κλώνους χρησιμοποιείται ως καλούπι για την κατασκευή ενός νέου κλώνου.

β.

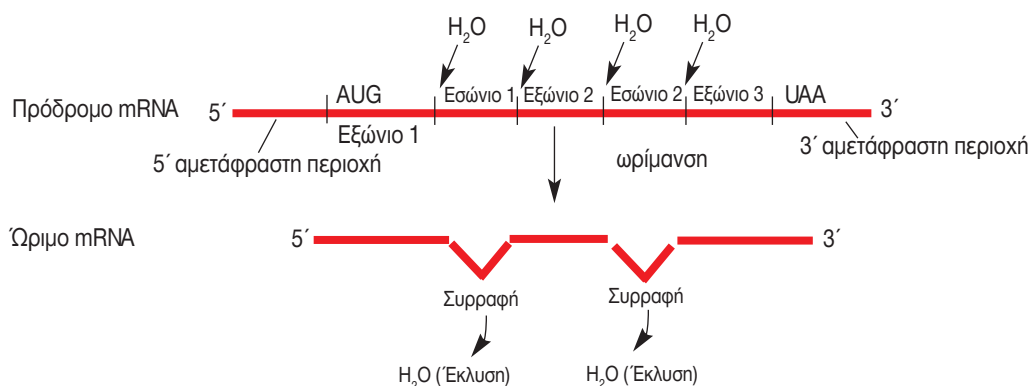


γ. Όχι, διότι το θείο δεν ενσωματώνεται στο DNA.

2. α. 5' αμετάφραστη περιοχή, εσώνια, 3' αμετάφραστη περιοχή.

β. 250 αμινοξέα αντιστοιχούν σε 250 κωδικόνια ή 250 τριπλέτες mRNA. Μαζί με μία τριπλέτα για το κωδικόνιο λήξης έχουμε 753 νουκλεοτίδια.

γ. Για κάθε εσώνιο που αποκόβεται, το κύτταρο πρέπει να προσφέρει δύο μόρια νερού επειδή κατά την αποκοπή υδρολύονται δύο φωσφοδιεστερικούς δεσμούς (φ.δ.) (άρα το κύτταρο προσφέρει δύο μόρια νερού για να αφαιρέσει ένα εσώνιο) ενώ κατά την συρραφή δυο εξωνίων δημιουργείται ένας φ.δ., επομένως εκλύεται (παράγεται) ένα μόριο νερού. Άρα εδώ που έχουμε δυο εσώνια το κύτταρο χάνει τελικά 2 μόρια νερού.



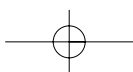
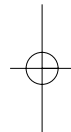
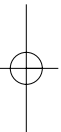
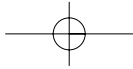
3. α. Το mRNA είναι συμπληρωματικό της μη κωδικής αλυσίδας άρα η σύσταση του θα είναι 20%A, 10% U, 30% C και 40% G.
- β. Ο προσανατολισμός όλων των νουκλεϊκών οξέων είναι πάντα 5'→3'. Όμως οι δυο αυτοί κλώνοι είναι αντιπαράλληλοι μεταξύ τους αφού είναι συμπληρωματικοί.
- γ. Το μόριο θα διαθέτει 300 ζεύγη A = T και 700 ζεύγη G ≡ C. Είναι  $(300 \times 2) + (700 \times 3) = 2.700$  δεσμοί υδρογόνου (δ.Η.).
- δ. Ένα μόριο μήκους 1.000 νουκλεοτιδίων μπορεί να διαθέτει 333 κωδικόνια. 1 κωδικόνιο λήξης και 32 αμινοξέα που αποκόβονται, μας απομένουν 300 αμινοξέα στη λειτουργική πρωτεΐνη.
4. Το γονίδιο θα αποτελείται από 10.000 ζ.β. οπότε έχουμε το σύστημα  $2A + 2G = 20.000$  και  $2A + 3G = 24.500$ . Λύνοντας το σύστημα παίρνουμε  $C = G = 4.500$  και  $A = T = 5.500$
5. Η πρωτεΐνη που δεν έχει υποστεί μετα-μεταφραστική τροποποίηση θα αποτελείται από 149 αμινοξέα, άρα θα κωδικοποιείται από 149 κωδικόνια, προσθέτοντας και το κωδικόνιο λήξης, θα είναι:  $\{[(99+50+1) \times 3] + 150 + 300 + 900\} = 1.800$  νουκλεοτίδια αποτελούν το πρόδρομο mRNA και 900 το ώριμο.
6. α. Τα κωδικόνια των πρώτων 5 αμινοξέων είναι τα <sup>5'</sup>**AUG** AGG AGA AGU CUG <sub>3'</sub> ενώ τα προηγούμενα αποτελούν 5' αμετάφραστη περιοχή. Έτσι τα αντίστοιχα αμινοξέα είναι: <sup>15</sup>N-μεθειονίνη - αργινίνη - αργινίνη - σερίνη - λευκίνη <sup>COOH</sup>
- β. Είναι <sup>5'</sup> **ATG** AGG AGA AGT CTG <sub>3'</sub>
- γ. Όχι, διότι έχει αποκοπεί μετα-μεταφραστικά.
7. α. Αν διαβάσουμε από δεξιά προς αριστερά βρίσκουμε τα <sup>5'</sup>**AUG** CCG ACU AGG AUG **UGA** <sub>3'</sub> άρα είναι ...<sup>5'</sup>AAGCAU **AUG** CCG ACU AGG AUG **UGA** CCCGGA <sub>3'</sub>...
- β. Θα έχει 4 αμινοξέα αφού η αρχική μεθειονίνη αποκόβεται μετα-μεταφραστικά.
8. Γονίδιο είναι τμήμα DNA με καθορισμένη αλληλουχία νουκλεοτιδίων που μεταγράφεται σε κάποιας μορφής RNA (βλέπε ορολογία). mRNA είναι το κινητό αντίγραφο της γενετικής πληροφορίας που κωδικοποιεί για την κατασκευή ενός πολυπεπτιδίου (βλέπε ορολογία). Το mRNA που θα προκύψει θα είναι το ...<sup>5'</sup>UUG - GGU - **AUG** - AAU - GCA...AAA - AAA - AAA - **UGA** - GGC - UCA - GUA <sub>3'</sub> ή <sub>3'</sub>UUG - GGU - AUG - **AAU** - GCA...AAA - AAA - AAA - UGA - GGC - UCA - **GUA** <sup>5'</sup>... . Τα παραπάνω ισχύουν με την προϋπόθεση ότι το πλήθος των παρεμβλλόμενων νουκλεοτιδίων είναι ακέραιο πολλαπλάσιο του 3 ώστε να τηρείται το αναγνωστικό πλαίσιο. Για την αιτιολόγηση βλέπε μεθοδολογία για τη λύση των ασκήσεων κεφ. 2.
9. Από τη θέση του αμινοτελικού άκρου φαίνεται ότι η αλυσίδα συντίθεται από δεξιά προς τα αριστερά και η πρώτη μεθειονίνη έχει αποκοπεί. Άρα για το mRNA ένας πιθανός συνδυασμός ριβονουκλεοτιδίων είναι: <sup>5'</sup> **AUG** GUU CAU CUU GCU GCU AUG **UAA** <sub>3'</sub> (το κωδικόνιο της αρχικής μεθειονίνης υπάρχει στο mRNA, η τρίτη βάση των κωδικονίων και το κωδικόνιο λήξης μπορεί να είναι και διαφορετικά σύμφωνα με τον εκφυλισμό του γενετικού κώδικα) ενώ τα tRNA αντίστοιχα θα είναι: <sub>3'</sub>UAC <sup>5'</sup>, <sub>3'</sub>CAA <sup>5'</sup>, <sub>3'</sub>GUA <sup>5'</sup>, <sub>3'</sub>GAA <sup>5'</sup>, <sub>3'</sub>CGA <sup>5'</sup>, <sub>3'</sub>CGA <sup>5'</sup>, <sub>3'</sub>UAC <sup>5'</sup>.
10. α. Στην αλυσίδα διαβάζοντας από δεξιά προς αριστερά βρίσκουμε **ATG** TCT GGG ACT TTG **TAA** που θα είναι ο κωδικός κλώνος με προσανατολισμό 5'→3'. Το mRNA θα είναι <sup>5'</sup>UAUUUA **AUG** UCU GGG ACU UUG **UAA** CAUGUAAA <sub>3'</sub>.

- β.** Υπάρχει και άλλο πλαίσιο ανάγνωσης αλλά απορρίπτεται αφού η σειρά των δομικών γονιδίων στο οπερόνιο της λακτόζης είναι *lacZYA*.
- 11. α.** Συμβουλευόμενοι την αντιστοιχία αμινοξέων-κωδικονίων του γενετικού κώδικα, βρίσκουμε ότι τα κωδικόνια για τα αντίστοιχα αμινοξέα βρίσκονται στην πάνω αλυσίδα που θα είναι και ο κωδικός κλώνος. Άρα το ώριμο mRNA θα είναι το  $5' \text{ CCG AUG UUU GCU UCA UAA AAAGC }_3'$ .
- β.** Ο οργανισμός που ανήκει το γονίδιο είναι ευκαρυωτικός, αφού τα γονίδια του περιέχουν εσώνια, άρα δεν μπορεί να είναι το *E.coli*.
- γ.** Όχι, θα παίρναμε ένα διαφορετικό ολιγοπεπτίδιο αφού τα βακτήρια δεν επιτελούν μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις.
- 12.** Από το ελεύθερο υδροξύλιο καταλαβαίνουμε ότι η Αλυσίδα 1 έχει κατεύθυνση  $5' \rightarrow 3'$  από τα αριστερά προς τα δεξιά και η αλυσίδα 2 έχει αντιπαράλληλο προσανατολισμό  $3' \rightarrow 5'$ . Από τη διεύθυνση της μεταγραφής που είναι πάντα  $5' \rightarrow 3'$  καταλαβαίνουμε ότι η αλυσίδα 1 είναι ο μη κωδικός κλώνος DNA και μεταγραφόμενος από δεξιά προς αριστερά δίνει το mRNA:  $5' \text{ UAU CUU UGU }_3'$ , επίσης αντιπαράλληλο προς τη μη κωδική αλυσίδα. Το ένζυμο που καταλύει τη μεταγραφή είναι η RNA πολυμεράση που αφού προσδεθεί στον υποκινητή, με τη βοήθεια κατάλληλου συνδυασμού μεταγραφικών παραγόντων, ξεδιπλώνει τις δύο αλυσίδες DNA και με μήτρα τη μη κωδική αλυσίδα κατασκευάζει το mRNA συνδέοντας με  $3' \rightarrow 5'$  φ.δ. συμπληρωματικά προς τη μη κωδική αλυσίδα ριβονουκλεοτίδια.
- 13.** Η πρωτεΐνη αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες, ανά δύο όμοιες, από τις οποίες η μία έχει μοριακό βάρος 9.000. Επομένως μαζί με την όμοιά της θα έχουν μοριακό βάρος  $2 \times 9.000 = 18.000$ . Αφού το Μ.Β. της πρωτεΐνης είναι 34.000, το άλλο ζεύγος όμοιων αλυσίδων θα έχουν μοριακό βάρος  $34.000 - 18.000 = 16.000$ . Άρα η κάθε αλυσίδα αυτού του ζεύγους θα έχει μοριακό βάρος  $16.000 : 2 = 8.000$ . Επομένως η αλυσίδα με Μ.Β. 9.000 αποτελείται από  $9.000 : 100 = 90$  αμινοξέα και η αλυσίδα με Μ.Β. 8.000 από 80.
- 14.** Αφού όλο το οπερόνιο αποτελείται από 9.000 ζ.β. μπορεί να κωδικοποιήσει  $3.000 - 5$  (πέντε κωδικόνια λήξης) ή 2.995 αμινοξέα. Αν το πολλαπλασιάσουμε με 100 που είναι το μέσο μοριακό βάρος ενός αμινοξέος θα βρούμε ότι το συνολικό μοριακό βάρος των πρωτεϊνών θα είναι 299.500. Αν προσθέσουμε τα μοριακά βάρη των γνωστών πρωτεϊνών προκύπτει 196.500. Επομένως η πρωτεΐνη Ε έχει Μ.Β. 103.000.
- 15. α.** Αφού οι αλυσίδες είναι ανά δύο όμοιες, είναι προϊόν δύο διαφορετικών mRNA.
- β.**  $30.000 : 100 = 300$  αμινοξέα αντιστοιχούν σε 300 κωδικόνια, και  $15.000 : 100 = 150$  αμινοξέα σε 150 κωδικόνια. Αν δεν λάβουμε υπόψη το κωδικόνιο λήξης, αυτά αντιστοιχούν σε τουλάχιστον 900 και 450 νουκλεοτίδια mRNA αντίστοιχα και με τη σειρά τους αυτά αντιστοιχούν σε τουλάχιστον 900 ζ. β. και τουλάχιστον 450 ζ. β. στο DNA.
- Τόσο το mRNA όσο και το γονίδιο δεν αποτελούνται μόνο από το μεταφράσιμο τμήμα τους, γι'αυτό χρησιμοποιούμε τη λέξη τουλάχιστον για τον αριθμό των νουκλεοτιδίων τους, που μπορούμε να υπολογίσουμε από τον αριθμό των αμινοξέων της πρωτεΐνης.*
- 16.** Τα ελεύθερα αμινοξέα έχουν μοριακό βάρος 128 αλλά μέσα στην πρωτεΐνη ενώνονται με πεπτιδικό δεσμό οπότε χάνεται ένα μόριο νερού (με μοριακό βάρος 18) για κάθε ένωση δύο αμινοξέων,

με εξαίρεση το τελευταίο αμινοξύ. Έτσι αν  $z$  ο αριθμός αμινοξέων έχουμε τον τύπο  $128 \times z - [18(z-1)] = 22.018$  όπου  $z-1$  ο αριθμός των πεπτιδικών δεσμών. Παίρνουμε 200 αμινοξέα. Αν προσθέσουμε και το κωδικόνιο λήξης, αυτό αντιστοιχεί σε 201 κωδικόνια ή 603 ζεύγη βάσεων του γονιδίου. Όποτε έχουμε στο σύστημα  $2A+2G=1.206$  και  $2A+3G=1.409$ , λύνοντάς το προκύπτει  $G=C=203$ ,  $A=T=400$ . Μπορούμε να υπολογίσουμε μόνο τον αριθμό των νουκλεοτιδίων του γονιδίου που ανήκουν στο μεταφράσιμο τμήμα του, συν το κωδικόνιο λήξης.

- 17.** Για μια αντιγραφική θηλιά έχουμε ταχύτητα αντιγραφής 200 ζεύγη βάσεων ανά δευτερόλεπτο. Αν είχαμε μόνο μία θέση έναρξης αντιγραφής, σε 12 ώρες θα ενσωματώνονταν  $(12 \times 3.600) \times 200 = 8.640.000$  νουκλεοτίδια. Άρα  $(6,6 \times 10^9) : (86,4 \times 10^5) = 764$ , δηλαδή βρίσκουμε ότι απαιτούνται 764 αντιγραφικές θηλιές ή 1.528 διχάλες, προκειμένου να αντιγράψει όλο το γονιδίωμα σε 12 ώρες.
- 18. α.** Σύμφωνα με τα παραπάνω και εφόσον το διπλοειδές ανθρώπινο γενετικό υλικό είναι  $6 \times 10^9$  ζεύγη νουκλεοτιδίων, με 1.000 θηλιές ομοιόμορφα κατανεμημένες θα έπρεπε σε κάθε διχάλα να αντιγράφονται  $[(6 \times 10^9) : 10^3] : 2 = 3 \times 10^6$  νουκλεοτίδια σε 20 λεπτά. Αφού 20 λεπτά είναι 1.200 δευτερόλεπτα θα έπρεπε να έχουμε ταχύτητα 2.500 νουκλεοτίδια/δευτερόλεπτο/διχάλα. Και εδώ όπως και στην προηγούμενη άσκηση, θεωρούμε τόσο το φυτικό όσο και το ανθρώπινο γονιδίωμα ότι κατανέμεται σε ένα ενιαίο χρωμόσωμα.
- β.** Έχουμε  $(4 \times 10^6) : 2 = 2 \times 10^6$  ζ.β του βακτηρίου *E. coli* για κάθε μια από τις δυο διχάλες μιας αντιγραφικής θηλιάς. Επομένως,  $(2 \times 10^6) : 1.200$ , παίρνουμε ταχύτητα αντιγραφής 1.667 νουκλεοτίδια ανά δευτερόλεπτο.
- 19. α.** Για  $2 \times 10^8$  ζεύγη βάσεων θα χρειάζονταν  $(2 \times 10^8) : 200 = 10^6$  δευτερόλεπτα ή 11,5 μέρες! (Με μονόδρομη διχάλα αντιγραφής). Για το *X* φυλετικό χρωμόσωμα θα χρειαστούν  $15 \times 10^7 : 200 = 75 \times 10^4$  δευτερόλεπτα ή περίπου 8,5 ημέρες.
- β.** Αν η θέση έναρξης της αντιγραφής είναι στο μέσο του χρωμοσώματος θα δημιουργηθεί αμφίδρομη διχάλα (θηλιά) και θα χρειαστεί περίπου ο μισός χρόνος για την αντιγραφή του κάθε χρωμοσώματος. Ωστόσο, η αντιγραφή του κύτταρου ολοκληρώνεται με το τέλος της αντιγραφής του μεγαλύτερου σε μέγεθος χρωμοσώματος.
- 20. α.** Η πρωτεΐνη θα περιέχει  $100.000 : 100 = 1.000$  αμινοξέα, άρα το ώριμο mRNA θα έχει μήκος 3.003 νουκλεοτίδια τουλάχιστον και το πρόδρομο τουλάχιστον 6.006. Επομένως το mRNA θα σχηματιστεί σε  $6.006 : 20 = 301$  δευτερόλεπτα ή 5 λεπτά και 1 δευτερόλεπτο.
- β.** Με τη δοσμένη ταχύτητα μετάφρασης απαιτούνται 1.000 δευτερόλεπτα ή περίπου 17 λεπτά και συνολικά μαζί με την ωρίμανση και τη διαδρομή πυρήνα→ριβοσώματα, περίπου 27 λεπτά.
- 21.** Τα εξώνια του πρόδρομου mRNA της ελαφριάς αλυσίδας αποτελούνται από  $1.500 \times 0,502 = 753$  αζωτούχες βάσεις, άρα 251 κωδικόνια ή 250 αμινοξέα, επομένως η βαριά αλυσίδα διαθέτει 1.000 αμινοξέα (αφού έχει τετραπλάσιο M.B.) ή 1.001 κωδικόνια στο mRNA. Μαζί με τα εσώνια και τις αμετάφραστες περιοχές είναι  $3.003 + 497 + 250 = 3.750$  αζωτούχες βάσεις. Άρα το γονίδιο, χωρίς της αλληλουχίες λήξης της μεταγραφής, αποτελείται από 7.500 νουκλεοτίδια DNA. Αφού σχηματίζονται 8.850 δεσμοί υδρογόνου, έχουμε λοιπόν το σύστημα:  $2A+3G=8.850$  και  $2A+2G=7.500$  και λύνοντας το παίρνουμε:  $A=T=2.400$ ,  $G=C=1.350$ .

22. Οι δυνατοί συνδυασμοί 5 διαφορετικών αζωτούχων βάσεων ανά τρεις είναι  $5^3 = 125$  κωδικόνια. Ήδη υπάρχουν 64 κωδικόνια, άρα απομένει να κατασκευαστούν  $125 - 64 = 61$  νέα αμινοξέα, αφού στα νέα κωδικόνια δεν θα υπάρχει εκφυλισμός.
23. Το μόριο μπορεί να διαθέτει 20 κωδικόνια αμινοξέων από τα οποία το πρώτο θα είναι πάντα  $5' AUG_3$ . Επομένως για τα επόμενα 19 αμινοξέα, είναι δυνατό να είναι οποιαδήποτε από τα 20 διαφορετικά που υπάρχουν, έτσι είναι δυνατό να σχηματισθούν  $20^{19}$  διαφορετικοί συνδυασμοί ολιγοπεπτιδίων.
24. Έστω ότι διαιρούνται από μια φορά όλα τα σωματικά κύτταρα του ανθρώπου (αυτό δεν ισχύει διότι υπάρχουν ιστοί, όπως ο νευρικός του οποίου τα κύτταρα δεν υφίστανται μίτωση). Μετά τον διπλασιασμό του γενετικού υλικού σε ένα ανθρώπινο κύτταρο υπάρχουν  $1,2 \times 10^{10}$  ζεύγη νουκλεοτιδίων. Άρα, συνολικά σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού θα υπάρχουν  $1,2 \times 10^{23}$  ζεύγη νουκλεοτιδίων και συνολικά μπορεί να συμβούν  $1,2 \times 10^{23} : 10^{10} = 1,2 \times 10^{13}$  λάθη, δηλαδή περίπου 1 νουκλεοτίδιο τοποθετείται λάθος ανά κύτταρο. Αντίθετα στο *E.coli* γίνονται 4 λάθη ανά διαίρεση του οργανισμού. Άρα αν και πιο αξιόπιστα τα ευκαρυωτικά επιδιορθωτικά συστήματα, λόγω πολλών κυττάρων του οργανισμού, σε κάθε διαίρεση όλων των κυττάρων του οργανισμού συμβαίνουν κατά απόλυτη τιμή περισσότερα λάθη από ότι σε μια διαίρεση βακτηρίου.





1. Η αύξηση των ιών είναι εκθετική και έτσι το πλήθος των ιών ή των κύτταρων που θα προσβληθούν από  $N_0$  ιούς μετά από  $n$  πολλαπλασιασμούς ιών θα είναι:

$$N_t = N_0 \times \omega^n$$

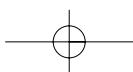
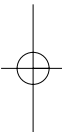
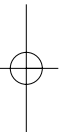
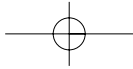
Όπου  $\omega$ : Ο αριθμός των ιών που προκύπτει από τον πολλαπλασιασμό ενός ιού.

Όπου  $N_0$ : Ο αρχικός αριθμός των ιών.

Όποτε εδώ έχουμε:  $10^{14} = 10^2 \times (10^3)^n \Rightarrow n = 4$ .

Δηλαδή μόλις 4 πολλαπλασιασμοί των αρχικών ιών αρκούν για να μολύνουν όλα τα κύτταρα του σώματος. Αφού οι ιοί πολλαπλασιάζονται κάθε 30 λεπτά σε  $4 \times 30 = 120$  λεπτά θα μολυνθούν θεωρητικά όλα τα κύτταρα του οργανισμού.

Αυτό δεν συμβαίνει στην πραγματικότητα χάριν στην λειτουργία του ανοσοποιητικού μας συστήματος και στο γεγονός ότι οι ιοί εμφανίζουν εξειδίκευση ως προς το είδος των κυττάρων που μπορούν να προσβάλλουν.



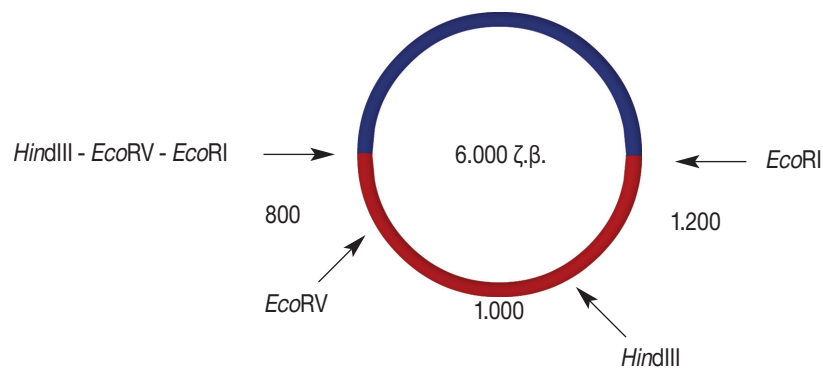


1. **α.** Αν το μόριο είναι γραμμικό θα διέθετε 49 θέσεις αναγνώρισης της *EcoRI*.  
**β.** 98, δύο σε κάθε πέψη (κόψιμο).  
**γ.** Τουλάχιστον 48, τα δύο ακραία τμήματα δεν κλωνοποιούνται άμεσα αφού θα έχουν μόνο το ένα άκρο με κολλώδες άκρο *EcoRI*, εκτός και αν γίνει τεχνητή προσθήκη μονόκλωνων ακρών *EcoRI* στην πλευρά που λείπουν. Τότε θα χρειαστούν τουλάχιστον 50 πλασμίδια.  
**δ.** 2 φωσφοδιεστερικοί δεσμοί σε κάθε πλασμίδιο και 8 δεσμοί υδρογόνου.  
**ε.** 4  
**στ.** Αν υποθέσουμε ότι σε κάθε βακτήριο εισέρχεται ένα μόνο πλασμίδιο, θα χρειαστούν τουλάχιστον 480 βακτήρια-ξενιστές.  
**Σημείωση:** Επειδή η άσκηση δεν προσδιορίζει αν το μόριο του DNA προέρχεται από τον πυρήνα του ευκαρυωτικού κυττάρου, θα πρέπει να εξετάσουμε και την περίπτωση που το μόριο αυτό προέρχεται από μιτοχόνδριο ή χλωροπλάστη (το τελευταίο για φυτικό κύτταρο). Μην ξεχνάτε ότι αυτά τα μόρια είναι κυκλικά.
2. Σε κάθε κύκλο αντιγραφής η αλληλουχία στόχος διπλασιάζεται σε ποσότητα. Σε 2 ώρες θα έχουν γίνει 30 κύκλοι, αφού κάθε κύκλος διαρκεί 4 λεπτά. Το πλήθος των αντιγράφων δίνεται από τη σχέση  $N_t = N_o \times 2^k$  όπου  $N_t$  ο τελικός αριθμός αντιγράφων,  $N_o$  ο αρχικός αριθμός αντιγράφων και  $k$  ο αριθμός των κύκλων. Άρα θα έχουν δημιουργηθεί  $2^{30}$  ή 1.073.741.824 αντίγραφα!
3. **α.** Στα πρώτα 5 λεπτά θα δημιουργηθούν 4 αντίγραφα, στα 10 λεπτά 8 αντίγραφα κ.ο.κ. και στα 30 λεπτά 128 αντίγραφα. Ή  $N_t = N_o \times 2^k \Rightarrow N_t = 2 \times 2^6 \Rightarrow N_t = 2^7 \Rightarrow N_t = 128$  αντίγραφα δημιουργούνται μετά από 6 κύκλους αντιγραφής, άρα  $6 \times 5 = 30\text{min}$ . Επειδή θέλουμε τουλάχιστον 100 αντίγραφα δεν μπορούμε να σταματήσουμε στους 5 κύκλους αντιγραφής διότι  $N_t = 2 \times 2^5 = 64$ , όμως  $64 < 100$ .  
**β.** Θα υπάρχουν  $128 \times 50.000 = 6.400.000$  νουκλεοτίδια. Θα έχουν χρησιμοποιηθεί  $(126 \times 50.000) = 6.300.000$  νουκλεοτίδια. Ουσιαστικά με την PCR δημιουργήθηκαν 126 νέα αντίγραφα.
4. Μπορεί να γίνει κλωνοποίηση, και η *DraI* και η *EcoRV* κόβουν χωρίς να δημιουργούν κολλώδη άκρα, άρα μπορούν να ενωθούν τα τμήματα DNA που προκύπτουν από τη δράση τους με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς, με την βοήθεια της DNA δεσμάσης. Η *EcoRI* απορρίπτεται αφού κόβει εσωτερικά του γονιδίου. Θα προκύψει η αλληλουχία:  

$$\begin{array}{l} 5' \text{GAT} \text{AAA} - \text{γονίδιο} - \text{TTC} \text{ATC} 3' \\ 3' \text{CTA} \text{TTT} - \text{γονίδιο} - \text{AAT} \text{AG} 5' \end{array}$$

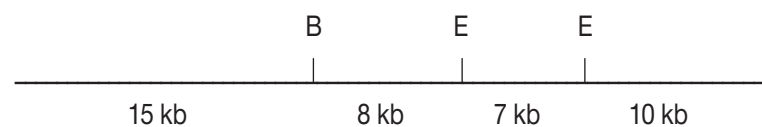
**Σημείωση:** Οι ανασυνδυασμοί τέτοιων τμημάτων DNA που δεν έχουν κολλώδη άκρα, είναι σαφώς πιο δύσκολο να επιτευχθούν, σε σχέση με το να διέθεταν τα τμήματα αυτά του DNA κολλώδη άκρα που έχουν δημιουργηθεί από την ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση.

5. Το αναγνωστικό πλαίσιο συν το κωδικόνιο λήξης της κωδικής αλυσίδας του γονιδίου, θα έχει την αλληλουχία <sup>5'</sup>ATG TTT TCT TAT TGT GAA TTC TAA<sub>3'</sub>. Η *EcoRI* κόβει εσωτερικά του γονιδίου ενώ η *EcoRV* έχει θέση αναγνώρισης μόνο δεξιά του γονιδίου. Άρα, επιλέγουμε τη περιοριστική ενδονουκλεάση *HindIII* για την οποία υπάρχουν θέσεις αναγνώρισης εκατέρωθεν του αναγνωστικού πλαισίου του γονιδίου και όχι εντός αυτού.
6. Επειδή επιλέχθηκε η γονιδιωματική βιβλιοθήκη που περιέχει και εσώνια, θα μεταφραστεί και το εσώνιο, αλλά αυτό θα αλλάξει το πλαίσιο ανάγνωσης. Το πεπτίδιο που θα προκύψει θα είναι: <sup>H<sub>2</sub>N</sup> μεθειονίνη-φαινυλαλανίνη-σερίνη-τυροσίνη-προλίνη-ασπαραγίνη-γλουταμικό οξύ-γλουταμικό οξύ<sup>COOH</sup>. Αν δημιουργούσαμε cDNA βιβλιοθήκη το πεπτίδιο που θα περνάμε θα ήταν: <sup>H<sub>2</sub>N</sup> μεθειονίνη - φαινυλαλανίνη - σερίνη - τυροσίνη - προλίνη - ασπαραγίνη - ασπαραγίνη - λυσίνη<sup>COOH</sup>.
7. Θα ακολουθήσετε τα γνωστά βήματα που περιγράφονται στο σχολικό βιβλίο. Δηλαδή το DNA του μύκητα και του πλασμιδίου θα κοπούν με την περιοριστική ενδονουκλεάση *EcoRI* κ.τ.λ. Τα τρυβλία του μετασχηματισμού θα περιέχουν το αντιβιοτικό αμπικιλίνη ή τετρακυκλίνη ή και τα δύο. Όλα τα πλασμίδια -ανασυνδυασμένα και μη, που θα προκύψουν με τη βοήθεια της DNA δεσμάσης- θα φέρουν ανθεκτικότητα σε αυτά τα αντιβιοτικά. Οι αποικίες που θα προκύψουν θα ελεγχθούν στη συνέχεια για ανθεκτικότητα στην χλωραμφαινικόλη, μεταφερόμενες σε ένα καινούργιο τρυβλίο που περιέχει μόνο το συγκεκριμένο αντιβιοτικό. Όσες είναι ανθεκτικές στο αντιβιοτικό αυτό θα φέρουν μη ανασυνδυασμένο πλασμίδιο ενώ όσες δεν είναι θα φέρουν ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.
8. Τα βακτήρια που έχουν λάβει μη ανασυνδυασμένα πλασμίδια δεν επιζούν, επειδή το γονίδιο *ccdB* εκφράζεται, όποτε παράγεται η θανατηφόρος για το βακτήριο πρωτεΐνη. Με αυτό τον τρόπο αποφεύγουμε ένα επιπλέον βήμα για την επιλογή των βακτηρίων που φέρουν τα ανασυνδυασμένα πλασμίδια. Ουσιαστικά όλες οι αποικίες που αναπτύχθηκαν στο στερεό θρεπτικό υλικό φέρουν το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.
9. Απομονώνουμε το DNA από το στέλεχος που καταβολίζει λακτόζη, το επώαζουμε με *EcoRI* και το κλωνοποιούμε στο πλασμίδιο με την βοήθεια της DNA δεσμάσης. Στη συνέχεια κάνουμε μετασχηματισμό χρησιμοποιώντας ως βακτήρια δέκτες τα βακτήρια που δεν έχουν δυνατότητα καταβολισμού λακτόζης. Για τρυβλία χρησιμοποιούμε αυτά που σαν μοναδική πηγή άνθρακα έχουν λακτόζη. Τα μόνα βακτήρια που θα επιζήσουν θα είναι αυτά που θα έχουν προσλάβει το πλασμίδιο που θα φέρει το λειτουργικό οπερόνιο της λακτόζης.
10. Αφού οι θέσεις αναγνώρισης των τριών περιοριστικών ενδονουκλεασών βρίσκονται σε σειρά στο ίδιο σχεδόν σημείο στο πλασμίδιο υπάρχει σταθερή θέση από όπου μετράμε αποστάσεις. Έτσι ο ζητούμενος περιοριστικός χάρτης είναι *EcoRI*-800 ζ.β.-*EcoRV*-1.000 ζ.β.-*HindIII*-1.200 ζ.β.-*EcoRI*. Κάθε ενδονουκλεάση κόβει σε δύο σημεία το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.
  - Το μπλε τμήμα του ανασυνδυασμένου πλασμιδίου αντιστοιχεί στο pBluscript (3.000 ζ.β.)
  - Το κόκκινο τμήμα αντιστοιχεί στο ετερόλογο γονίδιο (3.000 ζ.β.)



11. Η πιθανότητα να βρεθεί μια οποιαδήποτε εξαπλέτα (εδώ η αλληλουχία αναγνώρισης της *EcoRI*) μια φορά σε ένα τμήμα DNA, δίνεται από το λόγο: μήκος DNA :  $(6 \times 4^6) = 163.840 : (6 \times 4^6) = 6,7$  φορές. Όπου,  $6 \times 4^6$  το ελάχιστο μήκος DNA που απαιτείται για να εμφανίζονται από μια φορά ο καθένας από τους  $4^6$  διαφορετικούς συνδυασμούς των 4 διαφορετικών νουκλεοτιδίων ανά έξι.
12. Θα απομονωθεί το πλασμιδιακό DNA που περιέχει τα γονίδια *raf* 1 - 4 από το *E.coli* και με αυτό θα γίνει μετασχηματισμός των βακτηρίων *Acetobacter sp.* Η επιλογή των μετασχηματισμένων κυττάρων θα γίνει σε τρυβλία, που θα περιέχουν το αντιβιοτικό χλωραμφαινικόλη. Στη συνέχεια θα απομονώσουμε πάλι από τα βακτήρια *E.coli* τα χρωμοσωμικά γονίδια *raf* 5 - 7 και αφού ανασυνδυάσουμε ένα πλασμίδιο φορέα κλωνοποίησης που μπορεί να φέρει γονίδιο ανθεκτικότητας σε χλωραμφαινικόλη, θα μετασχηματίσουμε με αυτό τα κύτταρα *Acetobacter sp.* που θα έχουν προσλάβει ήδη το πλασμίδιο με το πρώτο οπερόνιο *raf* 1 - 4. Η επιλογή των μετασχηματισμένων κυττάρων *Acetobacter sp.* που φέρουν και τα δύο οπερόνια, θα γίνει σε τρυβλία με μοναδική πηγή άνθρακα τη ραφινόζη. Θα επιζήσουν μόνο κύτταρα *Acetobacter sp.* που έχουν και τα δύο οπερόνια οπότε μπορούν να καταβολίσουν ραφινόζη.
- Σημείωση 1:** Θα ήταν δυνατόν να χρησιμοποιηθεί ως φορέας κλωνοποίησης των χρωμοσωμικών γονιδίων και πλασμίδιο που φέρει γονίδιο ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό διάφορο της χλωραμφαινικόλης ώστε η επιλογή των επιθυμητών βακτηρίων να γίνει με κριτήριο την ανθεκτικότητά τους στα αντιβιοτικά. Ποιος από τους δύο τρόπους είναι ταχύτερος κατά την γνώμη σας;
- Σημείωση 2:** Θα ήταν δυνατόν να χρησιμοποιηθεί ως φορέας κλωνοποίησης των χρωμοσωμικών γονιδίων και το πλασμίδιο που φέρει το οπερόνιο *raf* 1-4, υπό την προϋπόθεση ότι η θέση που θα ενθεθεί το οπερόνιο *raf* 5 - 7 δεν επηρεάζει τη λειτουργικότητα του οπερονίου *raf* 1 - 4, ούτε τη λειτουργικότητα του γονιδίου ανθεκτικότητας στη χλωραμφαινικόλη, ενώ το μέγεθος του πλασμιδίου μετά τον ανασυνδυασμό του από το οπερόνιο *raf* 5 - 7 δεν το καθιστά εύθραυστο λόγω μεγάλου μεγέθους. Σε αυτή την περίπτωση σκεφτείτε τον τρόπο επιλογής των επιθυμητών βακτηρίων.
13. Για να παραχθούν τουλάχιστον 1.000 αντίγραφα, πρέπει να γίνουν τουλάχιστον 10 διπλασιασμοί του μορίου του DNA με την μέθοδο PCR, δηλαδή να παραχθούν 1.024 αντίγραφα. Εφόσον με την ταυτόχρονη δράση και των δύο περιοριστικών ένζυμων στα 1.024 μόρια DNA, προκύπτουν 4.096 θραύσματα και με δεδομένο ότι η ενδονουκλεάση *Bam*HI αναγνωρίζει μια θέση στο συγκεκριμένο γραμμικό μόριο DNA, συμπεραίνουμε ότι η ενδονουκλεάση *Eco*RI αναγνωρίζει δύο

θέσεις μέσα στο μόριο του DNA. Γνωρίζουμε ότι η περιοριστική ενδονουκλεάση *Bam*HI τέμνει ένα αντίγραφο σε δύο τμήματα των 15 kb και 25 kb. Ακόμη, γνωρίζουμε ότι έχουμε 1.024 θραύσματα μήκους 8 kb, από τη δράση και των δύο ενδονουκλεασών. Αφού κάθε αντίγραφο δίνει ένα θραύσμα και το καθένα από αυτά τα 1.024 θραύσματα μήκους 8 kb φέρει διαφορετικές αλληλουχίες στα μονόκλωνα άκρα του, σημαίνει ότι από τη μια έχει κοπεί από μια περιοριστική ενδονουκλεάση και από την άλλη με την άλλη περιοριστική ενδονουκλεάση. Επίσης, ξέρουμε ότι 1.024 θραύσματα μήκους 7 kb φέρουν εκατέρωθεν τα ίδια μονόκλωνα άκρα, δηλαδή προέκυψαν από τη δράση της ίδια περιοριστικής ενδονουκλεάσης, που αυτή δεν μπορεί να είναι άλλη από την *Eco*RI που τέμνει το μόριο του DNA σε δύο σημεία. Έτσι, τα υπόλοιπα θραύσματα θα είναι μήκους 15 kb και 10 kb.



**Σημείωση:** Είναι σχεδόν αδύνατο να μετρήσουμε τα θραύσματα που προκύπτουν από τη δράση ενδονουκλεάσεων σε προϊόντα PCR.