

A. Κάθε μόριο tRNA έχει μια ειδική τριπλέτα νουκλεοτιδίων, το αντικωδικόνιο, με την οποία προσδένεται, λόγω συμπληρωματικότητας, με το αντίστοιχο κωδικόνιο του mRNA. Αφού το αντικωδικόνιο του tRNA είναι 3'GGA5', το κωδικόνιο του mRNA θα είναι το 5'CCU3'. Το μόριο mRNA είναι προϊόν μεταγραφής της μη κωδικής αλυσίδας του γονιδίου, επομένως η μη κωδική αλυσίδα θα περιέχει την τριπλέτα 3'GGA5', ενώ η κωδική αλυσίδα που είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη με τη μη κωδική αλυσίδα θα περιέχει το κωδικόνιο 5'CCT3'. Κοιτώντας και τις δύο αλυσίδες και προς τις δύο κατευθύνσεις παρατηρώ την ύπαρξη του κωδικονίου CCT στην αλυσίδα I με φορά από δεξιά προς αριστερά αλλά και από αριστερά προς δεξιά. Κοιτώντας με φορά από αριστερά προς δεξιά και με βήμα τριπλέτας, συνεχές και μη επικαλυπτόμενο παρατηρώ την ύπαρξη κωδικονίου λήξης TGA. Το τμήμα που δίνεται είναι ενδιάμεσο επομένως δεν μπορεί να περιέχει κωδικόνιο λήξης. Άρα ο σωστός προσανατολισμός του κωδικονίου CCT στην αλυσίδα I είναι με φορά από δεξιά προς αριστερά. Η κωδική αλυσίδα είναι η I και έχει άκρα 3'.....5'. Η συμπληρωματική και αντιπαράλληλή της είναι η μη κωδική αλυσίδα (αλυσίδα II) και έχει άκρα 5'.....3'.

B. Το τμήμα του mRNA που θα προκύψει από τη μεταγραφή του γονιδίου είναι:

5'..... AAUUUCUUCGAAAUCAGUCCUAACAGCUCAAAUUCG.....3'

Κατά την έναρξη της μεταγραφής η RNA πολυμεράση προσδένεται στον υποκινητή και προκαλεί τοπικό ξετύλιγμα της διπλής έλικας του DNA. Στη συνέχεια, τοποθετεί τα ριβονουκλεοτίδια απέναντι από τα δεοξυριβονουκλεοτίδια μίας αλυσίδας του DNA σύμφωνα με τον κανόνα της συμπληρωματικότητας των βάσεων, όπως και στην αντιγραφή, με τη διαφορά ότι εδώ απέναντι από την αδερίνη τοποθετείται το ριβονουκλεοτίδιο που περιέχει ουρακίλη. Η RNA πολυμεράση συνδέει τα ριβονουκλεοτίδια που προστίθενται το ένα μετά το άλλο, με 3'-5' φωσφοδιεστερικό δεσμό. Η μεταγραφή έχει προσανατολισμό 5' → 3'. Η σύνθεση του RNA σταματά στο τέλος του γονιδίου, όπου ειδικές αλληλουχίες οι οποίες ονομάζονται αλληλουχίες λήξης της μεταγραφής, επιτρέπουν την απελευθέρωσή του. Το μόριο RNA που συντίθεται είναι συμπληρωματικό προς τη μία αλυσίδα της διπλής έλικας του DNA του γονιδίου. Η αλυσίδα αυτή είναι η μεταγραφόμενη και ονομάζεται μη κωδική. Η συμπληρωματική αλυσίδα του DNA του γονιδίου ονομάζεται κωδική. Το RNA είναι το κινητό αντίγραφο της πληροφορίας ενός γονιδίου.

Γ. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες παράγονται από βακτήρια και ο φυσιολογικός τους ρόλος είναι να τα προστατεύουν από την εισβολή «ξένου» DNA. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες αναγνωρίζουν ειδικές αλληλουχίες 4-8 νουκλεοτιδίων στο δίκλωνο DNA. Οι αλληλουχίες αυτές είναι παλίνδρομες. Παρατηρώντας το τμήμα που δίνεται διακρίνω δύο παλίνδρομες αλληλουχίες: Η μία είναι η 5' AATT 3' και η συμπληρωματική της, η οποία υπάρχει δύο φορές μέσα στο τμήμα και η άλλη είναι η 5' TTCGAA 3' και η συμπληρωματική της, η οποία υπάρχει μία φορά στο τμήμα. Για να χρησιμοποιηθεί το πλασμίδιο ως φορέας για την εισαγωγή γονιδίων σε φυτά θα πρέπει να διαθέτει την αλληλουχία αναγνώρισης της περιοριστικής ενδονουκλεάσης μία φορά. Επομένως η αλληλουχία αναγνώρισης της περιοριστικής ενδονουκλεάσης BstB I είναι η 5' TTCGAA 3' και η συμπληρωματική της.

Δ. Τα βήματα για τη δημιουργία διαγονιδιακού φυτού με αντοχή στον παγετό είναι τα εξής:

- Απομόνωση του γονιδίου που προσδίδει ανθεκτικότητα στον παγετό.
- Απομόνωση του πλασμιδίου Ti από το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*, το οποίο ζει στο έδαφος.

- Πέννη του πλασμιδίου με την περιοριστική ενδονουκλεάση BstB I στην περιοχή που βρίσκονται τα γονίδια που προκαλούν τους όγκους στα φυτά, με αποτέλεσμα την απενεργοποίησή τους.
- Ενσωμάτωση του γονιδίου που προσδίδει ανθεκτικότητα στον παγετό στο πλασμίδιο με τη βοήθεια DNA δεσμάσης. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται ένα ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.
- Εισαγωγή του ανασυνδυασμένου πλασμιδίου (μέσω μετασχηματισμένων βακτηρίων *Agrobacterium tumefaciens*) σε φυτικά κύτταρα σε κυτταροκαλλιέργεια. Με αυτόν τον τρόπο το γονίδιο που προσδίδει ανθεκτικότητα στον παγετό ενσωματώνεται στο γονιδίωμα των φυτικών κυττάρων και δημιουργούνται γενετικά τροποποιημένα φυτικά κύτταρα.
- Τέλος, από κάθε γενετικά τροποποιημένο φυτικό κύτταρο αναπτύσσεται ένα διαγονιδιακό φυτό, που περιέχει και εκφράζει το ξένο γονίδιο. Τα διαγονιδιακά φυτά που δημιουργούνται έχουν την ικανότητα να μεταβιβάζουν τις νέες ιδιότητες στους απογόνους τους.

Για τον έλεγχο μπορούν να χρησιμοποιηθούν:

- Η χρήση μορίου ανιχνευτή για τον εντοπισμό του γονιδίου που προσδίδει ανθεκτικότητα στον παγετό.
- Μοριακή ανάλυση.
- Χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων για τον εντοπισμό της πρωτεΐνης που προσδίδει ανθεκτικότητα στον παγετό.
- Έκθεση του φυτού σε συνθήκες παγετού.

Ε. Αυτός ο τρόπος βελτίωσης της παραγωγής είναι χρονοβόρος και επίπονος, επειδή απαιτούνται συνεχείς διασταυρώσεις. Επιπλέον οι απόγονοι που προκύπτουν φέρουν συνήθως ορισμένους μόνο από τους επιθυμητούς χαρακτήρες μαζί με άλλες μη επιθυμητές ιδιότητες.

Είναι φανερό ότι η χρησιμοποίηση διαγονιδιακών φυτών και ζώων για την αύξηση της φυτικής και ζωικής παραγωγής παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι της κλασικής μεθόδου των διασταυρώσεων. Αυτά επιγραμματικά είναι τα παρακάτω:

- Επιλογή και προσθήκη μόνο επιθυμητών ιδιοτήτων με ταυτόχρονη διατήρηση των παλαιών επιθυμητών χαρακτηριστικών.
- Ταχύτατη παραγωγή βελτιωμένων φυτών και ζώων σε σχέση με παραδοσιακές τεχνικές.

*Επιμέλεια: Μύαρη Αγγελική – Βιολόγος MSc
Φροντιστήρια ΒΑΦΕΙΑΔΑΚΗΣ*