

ΒΙΟΛΟΓΙΑ

ΘΕΤΙΚΗΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ

Επιμέλεια: Φανή Γκιγκέλου, Βιολόγος Msc

Η περιοριστική ενδονουκλεάση BamHI κόβει μεταξύ των 2 G, όταν συναντά την αλληλουχία:

5' GGATCC 3'

3' CCTAGG 5'

Ένα πλασμίδιο με μοριακό βάρος 100.000 και 120.000 δεσμούς υδρογόνου υποβάλλεται σε κατεργασία με την BamHI. Η ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση επιδρά σε ένα μόριο DNA με απο έλεσμα να το κόβει σε 3 τμήματα. Το τμήμα που υαξιο π αίται για τη σύνθεση του ανασυνδυσμένου πλασμιδίου έχει μοριακό βάρος 10.000 και περιέχει 14.000 δεσμούς υδρογόνου μετά την επεξεργασία μετά την επεξεργασία του με την περιοριστική ενδονουκλεάση. Στη συνέχεια τα δύο τμήματα DNA αναμειγνύονται και σχηματίζεται το ανασυνδυσμένο πλασμίδιο. Να υπολογιστεί το μοριακό βάρος και ο συνολικός αριθμός των δεσμών υδρογόνου στο ανασυνδυσμένο πλασμίδιο. Δίνεται $M.B._{νερού}=18$

Απάντηση

Το πλασμίδιο αυτό που θα χρησιμοποιηθεί ως φορέας κλωνοποίησης θα έχει μία φορά την αλληλουχία αναγνώρισης της BamHI. Μετά την επίδραση του ενζύμου σ' αυτό θα έχουν σπάσει 2 φωσφοδιεστερικοί δεσμοί (ένας στη μία αλυσίδα του πλασμιδίου και ένας στην άλλη) και θα έχουν «χαλάσει» 10 δεσμοί υδρογόνου. Επομένως, όταν ενσωματωθεί το τμήμα DNA με τις αζευγάρωτες βάσεις στα 2 άκρα του στο πλασμίδιο για να σχηματιστεί το ανασυνδυσμένο μόριο θα δημιουργηθούν 4 φωσφοδιεστερικοί δεσμοί, 2 σε κάθε άκρο του τμήματος και 20 επιπλέον δεσμοί υδρογόνου, 10 σε κάθε άκρο του τμήματος. Άρα, οι συνολικοί δεσμοί υδρογόνου του ανασυνδυσμένου πλασμιδίου θα είναι:

$120.000 - 10 + 14.000 + 20 = 134.000 + 10 = 134.010$ δεσμοί υδρογόνου.

Γνωρίζουμε ότι όταν δημιουργείται ένας φωσφοδιεστερικός δεσμός παράγεται ένα μόριο νερού, ενώ η διάσπασή του απαιτεί πρόσληψη ενός μορίου νερού. Το πλασμίδιο, μετά την επίδραση της BamHI την ενσωμάτωση του τμήματος σ' αυτό, έχει μοριακό βάρος $100.000 + 2 \times 18$

Το ανασυνδυσμένο πλασμίδιο έχει μοριακό βάρος

$100.000 + 2 \times 18 + 10.000 - 4 \times 18 = 110.000 - 2 \times 18 = 110.000 - 36 = 109.964$