

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗ ΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ

4^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ

1. Να θυμάμαι ότι κάθε περιοριστική ενδονουκλεάση, που δρα σε ένα γραμμικό μόριο DNA n φορές, θα δημιουργεί $n+1$ κομμάτια, ενώ σε κυκλικό μόριο, όσες φορές δρα τόσα κομμάτια θα δημιουργεί.
2. Στην ειδική περίπτωση που η ενδονουκλεάση δρα μια φορά τότε στο γραμμικό θα προκύπτουν 2 κομμάτια, ενώ το κυκλικό θα μετατρέπεται σε γραμμικό.
3. Κάθε περιοριστική ενδονουκλεάση σε κάθε σημείο που δρα καταστρέφει 2 φωσφοδιεστερικούς δεσμούς.
4. Ο αριθμός των δεσμών υδρογόνου που καταστρέφονται σε κάθε σημείο δράσης μιας περιοριστικής ενδονουκλεάσης, εξαρτάται από το είδος των βάσεων που παραμένουν ελεύθερες σε κάθε μονόκλωνη ουρά.
5. Ο αριθμός των πλασμιδίων που θα χρησιμοποιήσω για τον ανασυνδυασμό θάναί πολύ μεγαλύτερος από τον αριθμό των κομματιών DNA του γονιδιώματος του ευκαρυωτικού οργανισμού και αυτό επειδή κάποια πλασμίδια ξαναγίνονται κυκλικά πριν ανασυνδυαστούν.
6. Αν μας ζητάνε να επιλέξουμε την κατάλληλη περιοριστική ενδονουκλεάση για να κόψουμε από ένα δίκλωνο μόριο DNA συγκεκριμένο κομμάτι, τότε καταλληλότερη είναι εκείνη που δεν συναντά την αλληλουχία που αναγνωρίζει μέσα στο κομμάτι αυτό, και επί πλέον, κόβει όσο πιο κοντά γίνεται στα άκρα του κομματιού που θέλουμε.
7. Το κομμάτι DNA που ενσωματώνεται σε πλασμίδιο διαβάζεται ανεξάρτητα από το γενετικό υλικό του πλασμιδίου, άρα αν θέλω το κομμάτι αυτό να κωδικοποιεί πεπτιδίο πρέπει να περιέχει και κωδικόνιο έναρξης και κωδικόνιο λήξης πάντοτε κατά την κατεύθυνση 5' -3' .
8. Αν μου ζητήσουν δεσμούς υδρογόνου σε τμήμα που έχει προέλθει από τη δράση περιοριστικής ενδονουκλεάσης, να προσέξω ότι στα άκρα πιθανά δεν υπάρχουν ζεύγη βάσεων.
9. Η αποδιάταξη ενός δίκλωνου μορίου είναι τόσο δυσκολότερη όσο πιο πολλούς δεσμούς υδρογόνου περιέχει αυτό.
10. Η μέθοδος PCR είναι διαδικασία αντιγραφής δίκλωνου DNA, άρα ισχύουν για αυτήν: ο ημισυντηρητικός μηχανισμός και η εκθετική αύξηση (2^n) του αριθμού των μορίων