

2.1

α. Τα στάδια που ακολουθούνται για την κατασκευή ενός καρυότυπου είναι:

- επαγωγή της διαίρεσης των κυττάρων *in vitro* με ουσίες που έχουν μιτγόνο δράση.
- χρήση ουσιών που σταματούν την κυτταρική διαίρεση στη μετάφαση.
- επώαση κυττάρων σε υποτονικό διάλυμα.
- άπλωμα των χρωμοσωμάτων σε αντικειμενοφόρο πλάκα.
- χρωματισμός των χρωμοσωμάτων με ειδικές χρωστικές ουσίες και παρατήρησή τους στο μικροσκόπιο.
- ταξινόμηση χρωμοσωμάτων σε ζεύγη κατά ελαττούμενο μέγεθος.

β. Κατά τον προγεννητικό έλεγχο, η ανάλυση καρυότυπου χρησιμοποιείται για τη διαπίστωση ασθενειών που οφείλονται σε αριθμητικές ή δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Τέτοιες ασθένειες είναι το σύνδρομο Down (τα άτομα φέρουν ένα επιπλέον χρωμόσωμα 21) και το σύνδρομο Turner (έλλειψη ενός X φυλετικού χρωμοσώματος). Αντίθετα, η β-θαλασσαιμία που οφείλεται σε διαφορετικά είδη γονιδιακών μεταλλάξεων και ο αλφισμός, που ευθύνεται στην έλλειψη ενός ενζύμου, λόγω μεταλλάξεων στο αντίστοιχο γονίδιο, δεν μπορούν να διαγνωστούν με ανάλυση καρυότυπου.

2.2

α. Κατά τη κατασκευή μιας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης χρειάζονται τα ένζυμα DNA δεσμάση και περιοριστικές ενδονουκλεάσες για τη δημιουργία του ανασυνδυασμένου DNA. Το ολικό DNA από έναν οργανισμό δότη, καθώς και ο φορέας κλωνοποίησης, κόβονται με την ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση. Η DNA δεσμάση θα ενώσει τα δύο αυτά διαφορετικά είδη DNA όταν αναμειχθούν. Τα ένζυμα αντίστροφη μεταγραφάση και DNA πολυμεράση χρειάζονται για τη κατασκευή μιας cDNA βιβλιοθήκης.

β. Για τη περίπτωση I θα κατασκευάζαμε μόνο cDNA βιβλιοθήκη, αφού για να εκφραστεί ένα ανθρώπινο γονίδιο μέσα σε βακτήρια, δεν θα πρέπει να περιέχει εσώνια (καθώς τα βακτήρια δεν διαθέτουν τους μηχανισμούς ωρίμανσης των mRNA που διαθέτουν τα ευκαρυωτικά κύτταρα), ενώ για τη II θα κατασκευάζαμε αποκλειστικά γονιδιωματική βιβλιοθήκη, καθώς οι υποκινητές των γονιδίων ή τμήματα αυτών περιέχονται μόνο στις γονιδιωματικές βιβλιοθήκες.