



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ
ΚΑΙ Η ΣΧΕΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥΣ

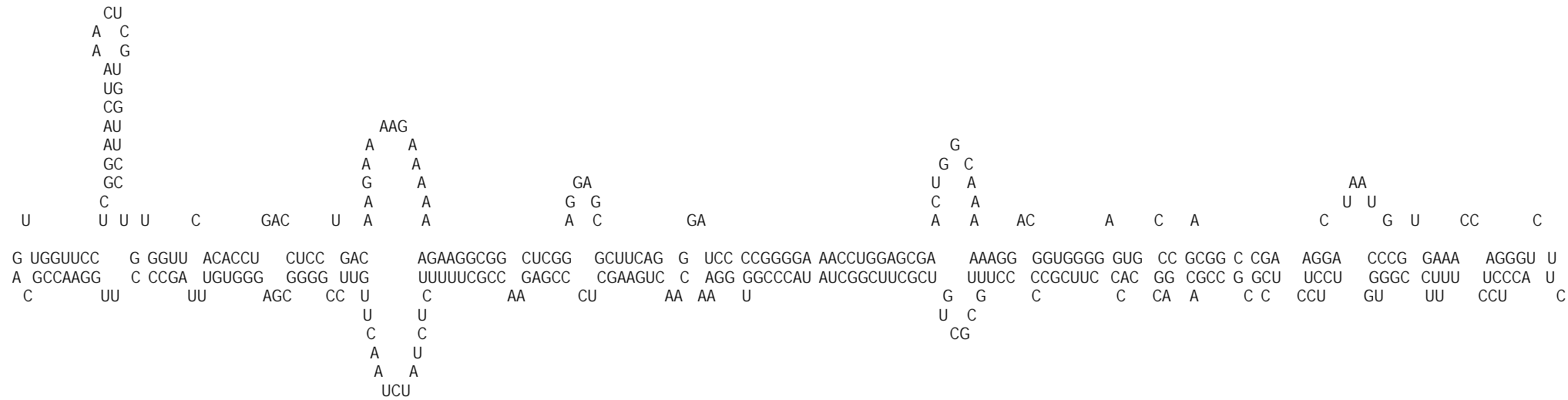
ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΜΙΑ ΑΣΥΛΗΠΤΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΠΛΑΣΜΑΤΩΝ ΣΥΝΘΕΤΟΥΝ, ΜΕ ΥΦΑΔΙΑ ΤΗΝ ΕΞΑΡΤΗΣΗ ΚΑΙ ΤΟΥ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟ, ΤΟ ΣΥΝΕΧΩΣ ΜΕΤΑΒΑΛΛΟΜΕΝΟ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑ ΠΟΥ ΜΑΣ ΔΙΑΙΩΝΙΖΕΙ. Η ΔΙΑΚΡΙΤΗ ΦΥΣΙΚΗ ΤΟΥΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΑ ΦΕΡΝΕΙ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΛΗΨΗ ΜΑΣ, ΤΗΝ ΑΜΕΣΗ ΟΤΑΝ ΤΑ ΜΕΓΕΘΗ ΤΟΥΣ ΕΙΝΑΙ ΜΑΚΡΟ/ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΑ, ΤΗΝ ΕΜΜΕΣΗ ΟΤΑΝ Η ΚΛΙΜΑΚΑ ΜΕΓΕΘΩΝ ΕΙΝΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ. ΟΙ ΜΙΚΡΟΤΕΡΕΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΟΜΕΝΕΣ ΟΝΤΟΤΗΤΕΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΩΣ ΤΑ ΣΗΜΕΡΑ, ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΕΡΓΑΛΕΙΩΝ ΤΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ, ΥΠΟΠΕΣΕΙ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΛΗΨΗ ΜΑΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ. ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΚΥΚΛΙΚΑ ΜΟΡΙΑ ΜΟΝΟΚΛΩΝΟΥ RNA, ΓΥΜΝΑ, ΜΕ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΙΚΡΟ ΜΕΓΕΘΟΣ (~250-400 ΒΑΣΕΙΣ). ΑΝΑΚΑΛΥΦΘΗΚΑΝ ΕΞ ΑΙΤΙΑΣ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ ΠΟΥ ΕΝΙΟΤΕ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΣΤΑ ΟΠΟΙΑ ΠΑΡΑΣΙΤΟΥΝ. ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΖΟΝΤΑΙ ΣΕ ΑΛΛΕΠΑΛΛΗΛΟΥΣ ΦΥΤΙΚΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ, ΕΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΕΣΩ ΠΟΛΥΣΥΝΘΕΤΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΠΟΥ ΜΕ ΚΑΠΟΙΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΟΥ ΕΡΧΟΝΤΑΙ ΣΕ ΑΜΕΣΗ ΕΠΑΦΗ. Η ΔΙΑΙΩΝΙΣΗ ΤΟΥΣ ΟΦΕΙΛΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑ ΕΠΙΛΟΓΗΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΛΛΗΛΩΝ ΕΠΑΦΩΝ ΜΕ ΒΙΟΜΟΡΙΑ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ ΠΟΥ ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΦΑΝΟΥΝ ΧΡΗΣΙΜΑ ΣΤΟΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΚΑΙ ΤΗΝ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΤΟΥΣ.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΗΣ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ

ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΕΧΟΥΝ ΜΙΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΗ ΔΟΜΗ (Ε.1). Ο ΣΤΟΙΧΕΙΩΔΗΣ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ (Ε.2) ΣΥΝΙΣΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΟΥ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΚΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ. Ο ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΜΕΣΩ ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΕΝΔΙΑΜΕΣΩΝ ΜΟΡΦΩΝ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ (Ε.2). ΩΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΣΥΧΝΑ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (Ε.3)

ΣΤΟΝ ΞΕΝΙΣΤΗ, Ο ΟΠΟΙΟΣ ΘΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΕΙ ΠΗΓΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΦΥΣΙΚΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ (Ε.4) Η ΤΗΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΟΛΥΝΣΗ ΣΤΟ ΕΠΟΜΕΝΟ ΦΥΤΟ (Ε.5). ΑΥΤΟ ΘΑ ΜΟΛΥΝΘΕΙ ΑΝ ΑΝΗΚΕΙ ΣΕ ΕΙΔΟΣ ΠΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ ΣΤΟ ΦΑΣΜΑ ΞΕΝΙΣΤΩΝ ΤΟΥ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ (Ε.5). ΑΝ ΟΧΙ, ΤΟΤΕ ΚΑΙ ΠΑΛΙ ΕΝΔΕΧΕΤΑΙ ΝΑ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΙ Η ΜΟΛΥΝΣΗ ΕΑΝ ΤΟ ΙΟΕΙΔΟΣ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΕΙ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΣΤΟΝ ΥΠΟΨΗΦΙΟ ΞΕΝΙΣΤΗ (Ε.6). Η ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΚΑΘΕ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΕΙΝΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΕΤΟΙΩΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΙΚΩΝ ΓΕΓΟΝΟΤΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΠΡΩΤΗ ΥΛΗ ΓΙΑ ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΕΞΕΛΙΞΗ (Ε.6). ΓΕΓΟΝΟΤΑ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ ΕΧΟΥΝ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΕΙ ΕΝΑ ΑΛΛΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΔΗΜΙΟΥΡΓΩΝΤΑΣ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΙΟΕΙΔΗ. ΑΥΤΟ ΓΙΝΕΤΑΙ ΕΚΔΗΛΟ ΟΤΑΝ ΤΑΚΤΟΠΟΙΗΘΟΥΝ ΤΑ ΣΗΜΕΡΙΝΑ ΙΟΕΙΔΗ ΣΕ ΟΜΑΔΕΣ (Ε.7) ΟΠΟΤΕ ΔΙΑΠΙΣΤΩΝΕΤΑΙ ΟΤΙ ΤΟ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΕΙΝΑΙ ΕΝΑΣ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΣ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΑΠΟ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΕΣ ΔΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ (Ε.8).



ΣΧΗΜΑ Ε.1

Η ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΚΑΙ Η ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗΣ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ PSTVD (GAST ET AL 1996).

E.1 Η ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ

ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΑΝΙΧΝΕΥΟΝΤΑΙ ΣΤΑ ΜΟΛΥΣΜΕΝΑ ΦΥΤΑ ΣΤΗΝ ΜΟΡΦΗ, ΩΣ ΕΠΙ ΤΟ ΠΛΕΙΣΤΟΝ, ΤΟΥ ΓΥΜΝΟΥ ΚΥΚΛΙΚΟΥ ΜΟΝΟΚΛΩΝΟΥ ΡΙΒΟΝΟΥΚΛΕΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΩΣ, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΜΑΛΙΣΤΑ ΔΕΝ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΕΙ ΓΙΑ ΚΑΠΟΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ (SEMANCIC 1987, SANGER 1982, 1984). ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΤΩΝ ΑΤΡΑΚΤΟΕΙΔΩΝ ΚΟΝΔΥΛΩΝ ΤΗΣ ΠΑΤΑΤΑΣ (ΠΡΟΤΑΤΟ ΣΠΙΝΔΛΕ ΤΥΒΕΡ ΒΙΡΟΙΔ, PSTVD) ΕΧΕΙ ΣΧΗΜΑ ΡΑΒΔΟΥ ΜΕ ΜΗΚΟΣ ΠΕΡΙΠΟΥ 37NM ΣΤΟ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ (SANGER ET AL 1976). ΤΟ ΣΧΗΜΑ ΑΥΤΟ (ΣΧΗΜΑ Ε.1) ΟΦΕΙΛΕΤΑΙ ΣΤΟ ΓΕΓΟΝΟΣ ΟΤΙ ΤΟ ΗΜΙΣΥ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΕΙΝΑΙ ΣΕ ΜΕΓΑΛΟ ΒΑΘΜΟ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΟ ΜΕ ΤΟ ΥΠΟΛΟΙΠΟ ΜΕ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΝΑ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΤΑΙ ΜΙΑ ΔΙΑΚΟΠΤΟΜΕΝΗ ΔΙΠΛΗ RNA ΕΛΙΚΑ (GROSS ET AL 1979, GAST ET AL 1996, RIESNER ET AL 1979). ΑΠΟ ΤΟ ΣΧΗΜΑ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ ΠΑΡΕΚΛΙΝΕΙ Η ΑΡΙΣΤΕΡΗ ΠΛΕΥΡΑ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ, ΟΠΟΥ Η ΕΛΙΚΑ ΔΙΑΚΛΑΔΩΝΕΤΑΙ ΣΕ ΔΥΟ ΜΙΚΡΟΤΕΡΕΣ (GAST ET AL 1996). ΣΕ ΥΨΗΛΟΤΕΡΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ, ΚΑΘΩΣ ΤΟ ΜΟΡΙΟ ΑΡΧΙΖΕΙ ΝΑ ΑΠΟΔΙΑΤΑΣΣΕΤΑΙ, ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕΤΑΒΑΤΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ (SANGER 1982), ΤΩΝ ΟΠΟΙΩΝ Ο ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΕΙΝΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ (QU ET AL 1993).

E.2 ΤΑ ΣΤΑΔΙΑ ΕΝΟΣ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ ΚΑΙ ΟΙ ΕΝΔΙΑΜΕΣΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ PSTVd

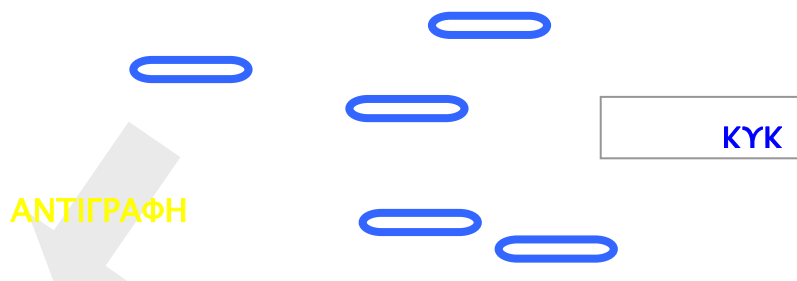
Η μόλυνση ενός φυτού με κάποιο ιοειδές περιλαμβάνει αλληπαλλήλους μολυσματικούς κύκλους που κάθε ένας έχει δύο στάδια, αυτό του ενδοκυτταρικού πολλαπλασιασμού και αυτό της διακυτταρικής μετακίνησης.

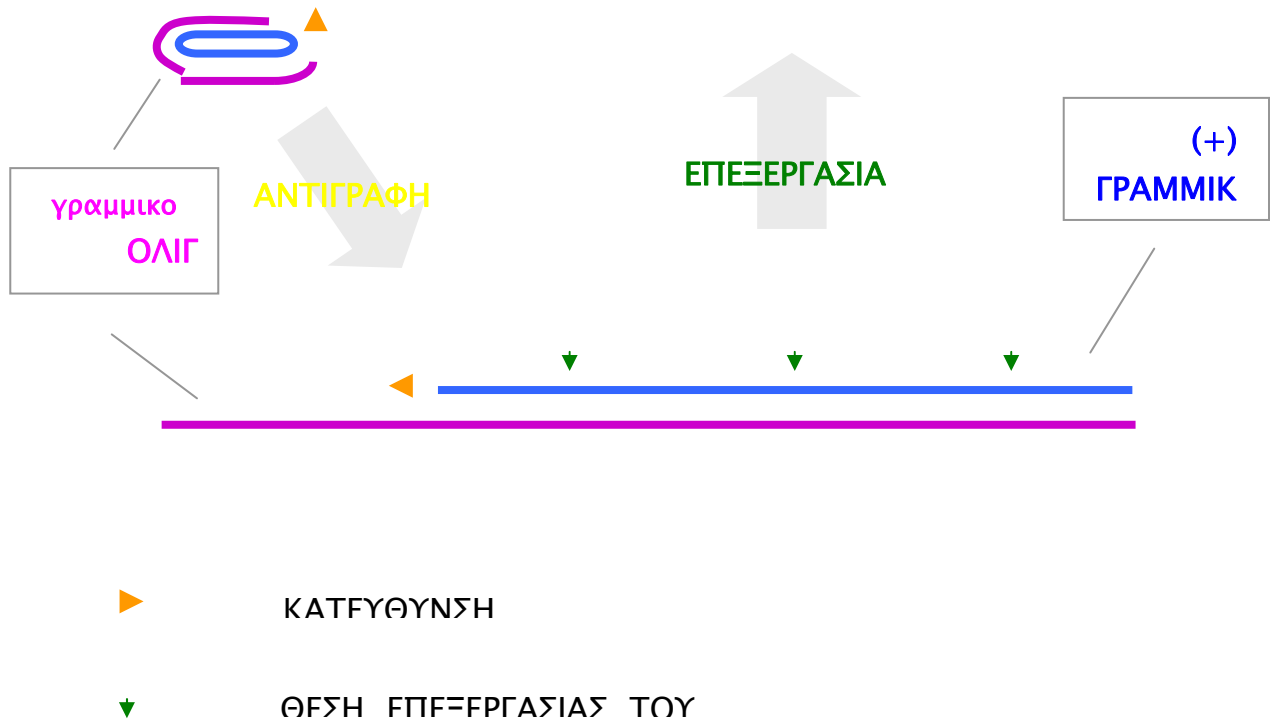
Ο ενδοκυτταρικός πολλαπλασιασμός του ιοειδούς PSTVd

ΣΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΑΥΤΟ, ΤΑ ΜΟΡΙΑ ΤΟΥ ΚΥΚΛΙΚΟΥ PSTVD, ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΕΙΣΕΛΘΕΙ ΣΕ ΕΝΑ ΦΥΤΙΚΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΑΠΟ ΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ Η ΑΠΟ ΚΑΠΟΙΟ ΓΕΙΤΟΝΙΚΟ ΚΥΤΤΑΡΟ, ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΖΟΝΤΑΙ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ, ΜΕ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗΝ ΣΥΣΩΡΕΥΣΗ 200-10.000 ΑΝΤΙΤΥΠΩΝ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΙΣΚΟ (SCHUMACHER ET AL 1983, HARDERS ET AL 1989). Ο ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΤΙΣ ΦΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ, ΠΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΕΚΠΕΡΑΙΩΣΗ ΤΟΥΣ ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΝΤΑΙ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ PSTVD RNA

(OWENS AND DIENER 1982, SPIESMACHER ET AL 1983). Ο ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΤΟΥ PSTVD (BRANCH AND ROBERTSON 1984, BRANCH ET AL 1982, TABLER AND TSAGRIS 1990) ΣΥΝΟΨΙΖΕΤΑΙ ΩΣ ΕΞΗΣ (ΣΧΗΜΑ Ε.2): ΤΟ (+) ΚΥΚΛΙΚΟ ΜΟΝΟΜΕΡΟΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΟΥ ΚΥΛΙΟΜΕΝΟΥ ΚΥΚΛΟΥ ΣΕ (-) ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ ΠΟΥ ΜΕ ΤΗΝ ΣΕΙΡΑ ΤΟΥΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΟΝΤΑΙ ΣΕ (+) ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ. ΑΠΟ ΑΥΤΑ, ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ, ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΤΑ ΝΕΑ ΚΥΚΛΙΚΑ ΜΟΝΟΜΕΡΗ ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΞΕΚΙΝΗΣΟΥΝ ΕΝΑΝ ΝΕΟ ΚΥΚΛΟ, ΣΤΟ ΙΔΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟ Η ΣΕ ΚΑΠΟΙΟ ΑΛΛΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΤΟΥ ΙΔΙΟΥ Η ΚΑΠΟΙΟΥ ΑΛΛΟΥ ΦΥΤΟΥ. Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΕΝΟΣ ΦΥΤΟΥ ΑΠΟ ΕΝΑ ΙΟΕΙΔΕΣ ΣΥΝΤΙΘΕΤΑΙ ΑΠΟ ΑΛΛΕΠΑΛΛΗΛΟΥΣ ΚΥΚΛΟΥΣ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΠΟΥ ΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΔΙΑΔΟΧΙΚΑ ΧΩΡΑ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ.

Η ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΓΙΝΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ DNA-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ RNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ ΤΥΠΟΥ II (RACKWITZ ET AL 1981, FLORES AND SEMANCIK 1982, GOODMAN ET AL 1984, SCHINDLER AND MUHLBACH 1992), Η ΟΠΟΙΑ ΣΤΟ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΠΡΟΣΔΕΔΕΜΕΝΗ ΣΤΙΣ ΑΚΡΕΣ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ ΠΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ ΜΟΝΟΜΕΡΟΣ (RACKWITZ ET AL 1981). ΟΣΟΝ ΑΦΟΡΑ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ (TSAGRIS ET AL 1987A, 1987B), ΑΝ ΚΑΙ ΓΝΩΡΙΖΟΥΜΕ ΤΙΣ ΔΟΜΙΚΕΣ ΠΡΟΥΠΟΘΕΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΟΥ ΑΝΩ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ (STEGER ET AL 1992, TSAGRIS ET AL 1991, TABLER ET AL 1992, BAUMSTARK AND RIESNER 1995, BAUMSTARK ET AL 1997), ΤΟ ΥΠΕΥΘΥΝΟ ΕΝΖΥΜΟ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ ΠΑΡΑΜΕΝΕΙ ΑΓΝΩΣΤΟ. ΣΕ ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΙΟΕΙΔΗ Η ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΓΙΝΕΤΑΙ ΑΥΤΟΚΑΤΑΛΥΤΙΚΑ ΟΜΩΣ ΑΥΤΑ ΔΕΝ ΘΑ ΜΑΣ ΑΠΑΣΧΟΛΗΣΟΥΝ.





Η διακυτταρική μετακίνηση

ΕΝΑΣ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΟΛΟΚΛΗΡΩΝΕΤΑΙ ΟΤΑΝ, ΜΕΤΑ ΤΟΝ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ, ΤΟ ΙΟΕΙΔΟΣ ΜΕΤΑΚΙΝΕΙΤΑΙ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΩΝ (DING ET AL 1997) ΣΤΟ ΕΠΟΜΕΝΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΓΙΑ ΝΑ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΙ ΕΚΕΙ ΝΕΟΣ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ. ΑΛΛΟΤΕ ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΕΝΑ ΓΕΙΤΟΝΙΚΟ ΚΥΤΤΑΡΟ (ΚΟΝΤΙΝΗ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ) ΑΛΛΟΤΕ ΓΙΑ ΚΑΠΟΙΟ ΑΠΟΜΑΚΡΥΣΜΕΝΟ (ΜΑΚΡΙΝΗ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ). ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΕΚΜΕΤΑΛΛΕΥΟΝΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΤΟΥΣ ΣΕ ΑΠΟΜΑΚΡΥΣΜΕΝΑ ΜΕΡΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΤΟΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΤΩΝ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΥΛΙΚΩΝ. ΕΤΣΙ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΦΛΟΙΩΜΑΤΟΣ (PALUKAITIS 1987) ΜΕΤΑΦΕΡΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ-ΠΗΓΕΣ (ΩΡΙΜΑ ΦΥΛΛΑ), ΟΠΟΥ ΓΙΝΕΤΑΙ ΚΑΙ Η ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΣΗ, ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ-ΔΕΞΑΜΕΝΕΣ (ΡΙΖΑ, ΜΕΡΙΣΤΩΜΑΤΙΚΟΙ ΙΣΤΟΙ, ΣΚΙΑΣΜΕΝΑ ΦΥΛΛΑ).

ΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗΣ ΕΠΑΛΛΗΛΙΑΣ ΤΩΝ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΚΟΝΤΙΝΗΣ/ΜΑΚΡΙΝΗΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ ΕΙΝΑΙ Η ΔΙΑΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΜΟΛΥΝΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ: ΑΦΟΥ ΓΙΝΕΙ Η ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗ ΣΕ ΚΑΠΟΙΟ ΦΥΛΛΟ Η ΣΤΟΝ ΒΛΑΣΤΟ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ, ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΜΕΤΑΚΙΝΕΙΤΑΙ ΣΤΗ ΡΙΖΑ, ΑΛΛΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΚΟΡΥΦΑΙΟ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑ ΜΕ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗ ΜΟΛΥΝΣΗ ΤΩΝ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΜΕΝΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΠΟΥ ΟΤΑΝ ΩΡΙΜΑΣΟΥΝ ΤΡΟΦΟΔΟΤΟΥΝ ΜΕ ΙΟΕΙΔΕΣ ΤΟ ΥΠΟΛΟΙΠΟ ΦΥΤΟ ΠΟΥ ΜΟΛΥΝΕΤΑΙ ΣΧΕΔΟΝ ΟΛΟΚΛΗΡΟ (PALUKAITIS 1987).

E.3 ΤΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ

Η ΜΟΛΥΝΣΗ ΕΝΟΣ ΦΥΤΟΥ ΜΕ ΚΑΠΟΙΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΣΥΧΝΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ. ΤΟ ΠΛΕΟΝ ΕΜΦΑΝΕΣ ΕΙΝΑΙ Ο ΝΑΝΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ, ΩΣΤΟΣΟ Η ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΤΩΝ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΩΝ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΕΜΦΑΝΙΣΤΟΥΝ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΤΟΠΙΚΗ ΝΕΚΡΩΣΗ ΤΩΝ ΑΓΓΕΙΩΝ, ΕΠΙΝΑΣΤΙΑ, ΤΡΑΧΥΤΗΤΑ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ, ΒΡΑΧΥΓΩΝΑΤΩΣΗ, ΚΑΙ ΠΑΡΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΠΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΚΟΝΔΥΛΟΥ (SEMANCEK 1987, DIENER 1987).

ΕΝΑ ΙΟΕΙΔΕΣ ΣΥΧΝΑ ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ (SINGH 1972, RUNIA AND PETERS 1980), ΟΜΩΣ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΙΟΕΙΔΗ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΡΟΚΑΛΕΣΟΥΝ ΤΑ ΙΔΙΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΣΤΟΝ ΙΔΙΟ ΞΕΝΙΣΤΗ (SEMANCEK 1987, RUNIA AND PETERS 1980). ΓΙΑ ΕΝΑ ΔΕΔΟΜΕΝΟ ΖΕΥΓΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ-ΞΕΝΙΣΤΗ, Η ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ ΝΑ ΕΜΦΑΝΙΣΤΟΥΝ ΤΑ ΤΥΠΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ, ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ Η ΤΑΧΥΤΗΤΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΚΑΙ Η ΣΟΒΑΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥΣ, ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΟΙΚΙΛΕΙ ΜΕΤΑΞΥ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ (SANGER 1982). Η ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΜΟΛΥΣΜΑΤΟΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΣΕ ΕΝΑ ΠΕΙΡΑΜΑ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗΣ ΚΑΙ ΟΙ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ ΕΠΙΣΗΣ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΤΑΧΥΤΗΤΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΣΟΒΑΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΩΝ (SANGER 1982).

E.4 Η ΦΥΣΙΚΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ

ΟΡΙΖΟΝΤΙΑ ΜΕΤΑΔΟΣΗ

ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΜΕΤΑΔΙΔΟΝΤΑΙ ΠΟΛΥ ΓΡΗΓΟΡΑ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΓΕΙΤΟΝΙΚΑ ΦΥΤΑ ΟΤΑΝ, ΜΕ ΤΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ, ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΕΝΟΙ ΙΣΤΟΙ ΕΡΧΟΝΤΑΙ ΣΕ ΕΠΑΦΗ ΕΙΤΕ ΑΜΕΣΑ (ΦΥΛΛΑ ΠΟΥ ΑΚΟΥΜΠΟΥΝ ΤΟ ΕΝΑ ΜΕ ΤΟ ΑΛΛΟ) ΕΙΤΕ ΕΜΜΕΣΑ (ΚΛΑΔΕΜΑ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΜΕ ΤΟ ΙΔΙΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ) (SEMANCIK 1987, SANGER 1982). ΤΗΝ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΟΡΙΖΟΝΤΙΑ ΔΙΑΔΟΣΗ ΕΥΝΟΕΙ Η ΘΕΡΜΟΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ, Η ΑΝΤΟΧΗ ΤΟΥ ΣΕ ΠΟΛΛΕΣ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΕΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΑΠΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ Η ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΝΑ ΕΠΙΒΙΩΝΕΙ ΣΕ ΞΗΡΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ (SEMANCIK 1987). Η ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΜΕ ΕΝΤΟΜΑ-ΦΟΡΕΙΣ, ΔΕΝ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΠΑΡΑ ΜΟΝΟ ΣΕ ΠΟΛΥ ΧΑΜΗΛΑ ΠΟΣΟΣΤΑ ΜΕ ΤΙΣ ΑΦΙΔΕΣ ΚΑΙ ΟΥΤΕ ΕΧΕΙ ΒΡΕΘΕΙ ΚΑΠΟΙΟΣ ΑΛΛΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΣ ΦΟΡΕΑΣ (DIENER 1987, SEMANCIK 1987).

ΚΑΘΕΤΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ

ΟΙ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ ΕΙΝΑΙ ΑΥΤΕΣ ΠΟΥ ΚΥΡΙΩΣ ΕΥΘΥΝΟΝΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΤΩΝ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ (SANGER 1982, 1984). ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΓΥΡΗΣ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΣΥΜΒΕΙ ΜΟΝΟΝ ΣΕ ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΑ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ (HUNTER ET AL 1969, FERNOW ET AL 1970).

E.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΟΛΥΝΣΗ ΚΑΙ ΕΥΡΟΣ ΞΕΝΙΣΤΩΝ

ΤΑ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΑ ΙΟΕΙΔΗ ΑΝΑΚΑΛΥΦΘΗΚΑΝ ΕΞΑΙΤΙΑΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΕΣΑΝ ΣΕ ΚΑΠΟΙΑ ΦΥΤΙΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ. ΚΑΠΟΙΑ ΑΠΟ ΑΥΤΑ ΕΤΥΧΕ ΝΑ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΘΟΥΝ ΩΣ ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΚΑΙ ΣΕ ΑΛΛΑ ΕΙΔΗ ΦΥΤΩΝ. ΕΚΤΟΣ ΟΜΩΣ ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΦΥΣΙΚΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΒΡΕΘΕΙ ΜΕ ΑΥΤΟ ΤΟΝ ΤΡΟΠΟ, ΠΟΛΥΑΡΙΘΜΑ ΕΙΔΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΩΝ ΚΑΙ ΟΜΑΔΩΝ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΜΟΛΥΝΘΟΥΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΜΕ ΚΑΠΟΙΟ ΙΟΕΙΔΕΣ - ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΥΤΗ ΜΙΛΑΜΕ ΓΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ - ΔΙΧΩΣ ΠΑΝΤΑ ΝΑ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (DIENER 1987, SINGH 1972, RUNIA AND PETERS 1980). ΤΟ ΦΑΣΜΑ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΞΕΝΙΣΤΩΝ ΤΟΥ ΚΑΘΕ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΣΥΝΗΘΩΣ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΕΙΔΗ ΣΥΓΓΕΝΙΚΑ ΜΕ ΤΟΥΣ ΦΥΣΙΚΟΥΣ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΕΣ.

ΟΙ ΠΛΕΟΝ ΔΙΑΔΕΔΟΜΕΝΕΣ, ΧΑΡΗ ΣΤΗΝ ΑΠΛΟΤΗΤΑ ΤΟΥΣ, ΜΕΘΟΔΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΤΑΔΟΗ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΕΙΝΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΕΣ. ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΕΛΑΦΡΥ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟ ΕΝΟΣ ΦΥΛΛΟΥ Η ΤΟΥ ΒΛΑΣΤΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΥΓΡΟΥ ΜΟΛΥΣΜΑΤΟΣ (SANGER 1982, SINGH 1972, RUNIA AND PETERS 1980). ΩΣ ΜΟΛΥΣΜΑ ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΟΥΝ, ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ, ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΜΟΛΥΣΜΕΝΑ ΦΥΤΑ, ΚΑΘΑΡΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΔΗΛ. ΚΥΚΛΙΚΟ ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ RNA, ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ RNA ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ Η ΑΚΟΜΗ ΚΑΙ DNA (TABLER AND SANGER 1984, 1985).

Η ΜΟΛΥΝΣΗ ΜΕΣΩ ΑΓΡΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ ΕΙΝΑΙ ΜΙΑ ΠΙΟ ΧΡΟΝΟΒΟΡΑ ΕΠΙΛΟΓΗ, Η ΟΠΟΙΑ ΕΦΑΡΜΟΣΤΗΚΕ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΟΛΥΝΣΗ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ ΜΕ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ PSTVD (GARDNER ET AL 1986). ΣΤΟΝ ΒΛΑΣΤΟ ΤΟΥ ΝΕΑΡΟΥ ΦΥΤΟΥ, ΓΙΝΕΤΑΙ ΕΝΕΣΗ ΜΕ ΑΓΡΟΒΑΚΤΗΡΙΟ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΕΙ ΜΕ ΕΝΑ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΦΕΡΕΙ ΤΟ CDNA ΤΟΥ PSTVD. ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΟΓΚΟΥ ΠΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΤΑΙ ΕΞΑΙΤΙΑΣ ΤΟΥ ΑΓΡΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ, ΤΟ PSTVD ΠΑΡΑΓΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΜΟΡΦΗ ΓΡΑΜΜΙΚΩΝ (ΜΟΝΟΜΕΡΩΝ Η ΟΛΙΓΟΜΕΡΩΝ) RNA ΜΕΤΑΓΡΑΦΩΝ. ΑΠΟ ΑΥΤΑ ΤΑ ΣΥΝΕΧΩΣ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ ΞΕΚΙΝΑ Ο ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΟΓΚΟΥ, ΜΕ ΤΕΛΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗ ΔΙΑΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΜΟΛΥΝΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΜΕ PSTVD.

ΜΕ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΤΡΟΠΟ ΕΠΙΜΟΛΥΝΘΗΚΑΝ ΜΕ PSTVD ΚΑΙ ΟΡΙΣΜΕΝΟΙ ΜΗ ΞΕΝΙΣΤΕΣ. ΣΤΟΥΣ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟΥΣ, ΟΠΩΣ ΑΝΑΜΕΝΟΤΑΝ, ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΔΕΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΗΚΕ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΟΓΚΟΥ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΑ ΔΕΝ ΜΟΛΥΝΕ ΤΟ ΦΥΤΟ. ΕΞΑΙΡΕΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΕ ΤΟ ΕΙΔΟΣ *SOLANUM ACAULE*, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΑΝ ΚΑΙ ΔΕΝ ΜΟΛΥΝΕΤΑΙ ΜΕ PSTVD ΜΕ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΟΛΥΝΣΗ, ΑΠΟΔΕΙΧΤΗΚΕ ΕΠΙΔΕΚΤΙΚΟ ΣΤΗ ΜΟΛΥΝΣΗ ΜΕ PSTVD ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΑΓΡΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ (SALAZAR ET AL 1988). Η ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΑΥΤΗ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΩΣ ΟΦΕΙΛΕΤΑΙ ΣΕ ΜΙΑ ΒΑΣΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΑ ΤΩΝ ΔΥΟ ΜΕΘΟΔΩΝ. ΣΤΗΝ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗ, Η ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΟΥ ΜΟΛΥΣΜΑΤΟΣ ΕΙΝΑΙ ΠΑΡΟΔΙΚΗ ΚΑΙ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΗ ΣΤΟ ΣΗΜΕΙΟ ΤΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ. ΜΕ ΤΟ ΑΓΡΟΒΑΚΤΗΡΙΟ ΩΣΤΟΣΟ, ΤΟ PSTVD RNA ΠΑΡΑΓΕΤΑΙ ΣΥΝΕΧΩΣ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΟΓΚΟΥ. ΕΤΣΙ ΠΟΛΥΑΡΙΘΜΑ ΜΟΡΙΑ ΕΙΝΑΙ ΔΙΑΘΕΣΙΜΑ ΜΕΣΑ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΓΙΑ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΕΠΟΜΕΝΩΣ Η ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΤΟΥ ΚΥΚΛΟΥ ΕΙΝΑΙ ΑΥΞΗΜΕΝΗ. ΕΠΙΠΛΕΟΝ, ΑΝ Η ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΕΙΝΑΙ ΑΚΑΤΑΛΛΗΛΗ ΓΙΑ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΣΤΟ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟ ΦΥΤΟ, Η ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΠΟΥ

ΠΙΘΑΝΟΤΑΤΑ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΣΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΩΝ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΙΣΩΣ ΔΙΕΥΚΟΛΥΝΕΙ ΤΗΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΣΤΟΝ ΝΕΟ ΞΕΝΙΣΤΗ. ΜΙΑ ΤΕΤΟΙΑ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΘΗΚΕ ΣΕ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΜΕ PSTVD ΦΥΤΑ ΚΑΠΝΟΥ (Ο ΚΑΠΝΟΣ ΔΕΝ ΗΤΑΝ ΞΕΝΙΣΤΗΣ ΤΟΥ PSTVD) ΟΠΟΥ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΠΟΛΛΑΛΑΣΙΑΖΕΤΑΙ ΜΟΝΟΝ ΕΧΟΝΤΑΣ ΑΠΟΚΤΗΣΕΙ ΜΙΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΣΗΜΕΙΑΚΗ ΜΕΤΑΛΛΑΓΗ (WASSENEGGER ET AL 1994B).

E.6 ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΞΗ

ΤΗΝ ΠΡΩΤΗ ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΗΣ ΑΚΟΛΟΥΘΙΑΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ PSTVD (GROSS ET AL 1978) ΑΚΟΛΟΥΘΗΘΗΣΑΝ ΑΛΛΕΣ ΠΟΥ ΔΕΝ ΕΔΩΣΑΝ ΑΚΡΙΒΩΣ ΤΟ ΙΔΙΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ. Η ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΕΜΠΛΟΥΤΙΖΟΤΑΝ ΚΑΘΩΣ ΓΙΝΟΤΑΝ ΓΝΩΣΤΕΣ ΟΙ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΕΣ ΑΚΟΛΟΥΘΙΕΣ ΟΛΟ ΚΑΙ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΩΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΩΝ ΠΕΔΙΟΥ (SCHNOLZER 1985, PUCHTA ET AL 1990, HEROLD 1992, LAKSHMAN AND TAVANTZIS 1993) ΠΟΥ ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΝ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΑ ΜΕΡΗ ΤΟΥ ΚΟΣΜΟΥ. ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ 12 ΦΥΣΙΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΤΟΥ PSTVD ΟΙ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ΦΘΑΝΟΥΝ ΤΟ 2,5% ΚΑΙ ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ ΠΟΙΚΙΛΕΙ ΚΑΤΑ ± 1 ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟ ΣΤΑ 359.

ΓΙΑ ΝΑ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙ ΟΜΩΣ ΚΑΝΕΙΣ ΤΗΝ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΕΝΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΔΕΝ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ ΝΑ ΤΑΞΙΔΕΥΕΙ. ΣΤΟ ΙΔΙΟ ΦΥΤΟ ΣΥΧΝΑ ΣΥΝΥΠΑΡΧΟΥΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ (VISVADER AND SYMONS 1985, LAKSHMAN AND TAVANTZIS 1993, OWENS ET AL 1995, POLIVKA ET AL 1996). ΑΡΚΕΙ ΕΝΑ ΦΥΤΟ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΕΠΙΜΟΛΥΝΘΕΙ ΜΕ ΕΝΑ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΣ ΜΟΛΥΣΜΑ ΓΙΑ ΝΑ ΔΙΑΠΙΣΤΩΘΕΙ, ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΗ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ, Η ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΕΝΟΣ ΕΤΕΡΟΓΕΝΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΜΟΡΙΩΝ (GORA-SOCHACKA ET AL 1997, GRUNER ET AL 1995). ΚΑΤΑ ΤΟ ΠΛΕΙΣΤΟΝ ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΟΛΙΓΑΡΙΘΜΕΣ ΣΗΜΕΙΑΚΕΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ, ΚΑΙ ΜΙΚΡΕΣ ΕΛΛΕΙΨΕΙΣ Η ΠΡΟΣΘΗΚΕΣ.

ΕΝΔΕΧΕΤΑΙ ΝΑ ΧΡΕΙΑΣΤΟΥΝ ΛΙΓΕΣ ΑΛΛΗΛΟΔΙΑΔΟΧΙΚΕΣ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΕΙΣ ΑΠΟ ΦΥΤΟ ΣΕ ΦΥΤΟ ΠΡΟΤΟΥ ΑΡΧΙΣΕΙ ΝΑ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑ (GORA-SOCHACKA ET AL 1997). ΩΣΤΟΣΟ, ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΕΙΝΑΙ ΤΟΣΟ ΣΤΑΘΕΡΑ ΓΕΝΕΤΙΚΩΣ ΩΣΤΕ ΠΑΡΕΜΕΙΝΑΝ

ΟΜΟΙΟΓΕΝΗ ΑΚΟΜΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΟΛΥΑΡΙΘΜΕΣ ΑΛΛΗΛΟΔΙΑΔΟΧΙΚΕΣ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΕΙΣ ΠΟΥ ΣΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΟΥΣ ΔΙΗΡΚΕΣΑΝ ΧΡΟΝΙΑ (LAKSHMAN AND TAVANTZIS 1993).

ΤΑ ΠΟΙΚΙΛΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕΣΑ ΣΤΟΝ ΞΕΝΙΣΤΗ ΣΥΧΝΑ ΔΙΑΦΕΡΟΥΝ ΣΕ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ Η/ΚΑΙ ΣΤΗ ΣΟΒΑΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ. ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΩΣ ΣΤΑΘΕΡΑ ΕΙΝΑΙ ΣΥΝΗΘΩΣ ΑΥΤΑ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΚΑΙ ΤΑ ΣΟΒΑΡΟΤΕΡΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (GORA-SOCHACKA ET AL 1997, LAKSHMAN AND TAVANTZIS 1993). ΑΥΤΟ ΓΙΝΕΤΑΙ ΚΑΤΑΝΟΗΤΟ ΟΤΑΝ ΣΥΣΧΕΤΙΣΤΕΙ ΜΕ ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΜΙΚΤΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ. ΕΚΕΙ ΔΙΑΠΙΣΤΩΘΗΚΕ ΟΤΙ ΤΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΣΟΒΑΡΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΕΠΙΚΡΑΤΟΥΝ ΤΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΗΠΙΟΤΕΡΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΠΑΡΑ ΤΟ ΓΕΓΟΝΟΣ ΟΤΙ ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΟΥΝ ΟΥΤΕ ΣΕ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΟΥΤΕ ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ ΟΤΑΝ ΤΟ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΞΕΧΩΡΙΣΤΑ ΜΟΛΥΝΕ ΤΟ ΦΥΤΟ (GRUNER ET AL 1995). ΑΥΤΟ ΣΗΜΑΙΝΕΙ ΟΤΙ ΤΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΑΝΤΑΓΩΝΙΖΟΝΤΑΙ ΤΟ ΕΝΑ ΤΟ ΑΛΛΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΡΑΤΗΣΗ ΣΤΟ ΦΥΤΟ ΚΑΙ ΜΑΛΙΣΤΑ ΣΕ ΚΑΠΟΙΟ ΠΟΛΥ ΠΡΩΙΜΟ Η/ΚΑΙ ΠΟΛΥ ΚΡΙΣΙΜΟ ΣΤΑΔΙΟ ΑΦΟΥ ΥΠΑΡΧΕΙ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΟ ΕΝΑ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΝΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΕΙ ΤΟ ΑΛΛΟ. ΕΠΕΙΔΗ Η ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ ΕΙΝΑΙ ΑΝΑΛΟΓΗ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΘΟΓΟΝΟ ΙΣΧΥ ΤΟΥ ΣΥΜΠΕΡΑΙΝΟΥΜΕ ΟΤΙ ΤΟ ΚΡΙΣΙΜΟ ΑΥΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΟΥ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟΥ ΘΑ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΚΑΙ ΑΥΤΟ ΚΑΤΑ ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝΤΑΙ ΚΑΙ ΤΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΣΤΟ ΦΥΤΟ. ΑΦΟΥ ΤΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ, ΕΙΝΑΙ ΠΟΛΥ ΠΙΘΑΝΟ ΤΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΝΑ ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑΤΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ. ΤΟ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑ ΕΙΝΑΙ ΕΝΑ ΚΡΙΣΙΜΟ ΣΗΜΕΙΟ ΣΤΗΝ ΠΟΡΕΙΑ ΜΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΔΙΟΤΙ ΟΤΑΝ ΕΝΑ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΚΑΤΑΛΑΒΕΙ ΤΑ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ, ΕΞΑΣΦΑΛΙΖΕΙ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΟΥ ΣΕ ΚΑΘΕ ΙΣΤΟ ΠΟΥ ΘΑ ΠΡΟΚΥΨΕΙ ΑΠΟ ΑΥΤΑ ΔΗΛ. ΣΕ ΟΛΑ ΤΑ ΝΕΑ ΜΕΡΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ. ΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΟΥ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΡΑΤΗΣΗ ΣΤΟ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΩΣ ΘΑ ΚΡΙΝΕΙ ΠΟΙΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΘΑ ΕΞΑΠΛΩΘΕΙ ΣΤΟ ΦΥΤΟ. ΤΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΜΕΓΑΛΕΣ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΕΣ ΚΑΤΑΛΗΨΗΣ ΤΟΥ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑΤΟΣ ΑΠΟΚΛΕΙΟΥΝ ΤΑ ΥΠΟΛΟΙΠΑ, ΑΛΛΑ ΚΑΤΑΧΡΩΝΤΑΙ ΤΟΝ ΙΣΤΟ ΜΕ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΝΑ ΔΙΑΤΑΡΑΣΣΕΤΑΙ Η ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ. ΕΤΣΙ ΤΑ ΠΑΘΟΓΟΝΙΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΕΙΝΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΩΣ ΣΤΑΘΕΡΑ ΔΙΟΤΙ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΠΙΟ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΑ. ΤΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΛΙΓΟΤΕΡΟ ΚΑΤΑΧΡΗΣΤΙΚΑ ΕΙΝΑΙ ΚΑΙ ΛΙΓΟΤΕΡΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΑ ΣΤΟ ΝΑ ΚΑΤΑΛΑΒΟΥΝ

ΤΟ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑ ΚΑΤΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ. Η ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΕΙΝΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗΣ ΕΛΛΕΙΨΗΣ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟΥ.

ΕΑΝ ΤΟ ΑΡΧΙΚΟ ΜΟΛΥΣΜΑ ΕΙΝΑΙ ΚΑΠΟΙΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΧΑΜΗΛΗΣ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ (ΣΥΝΗΘΩΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΠΟΥ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ *IN VITRO*), ΤΟΤΕ Η ΓΕΝΕΤΙΚΗ *IN VIVO* ΕΠΑΝΑΦΟΡΑ ΤΟΥ ΣΕ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΑ ΥΨΗΛΟΤΕΡΗΣ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΕΙΝΑΙ ΣΧΕΔΟΝ ΒΕΒΑΙΗ (QU ET AL 1993, WASSENEGGER ET AL 1994, HAMMOND 1994, LAKSHMAN AND TAVANTZIS 1992, HU ET AL 1996). ΑΚΟΜΗ ΚΑΙ ΙΟΕΙΔΕΣ ΠΟΥ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΕ *IN VITRO* ΑΠΟ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΔΥΟ ΣΥΓΓΕΝΙΚΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΘΗΚΕ *IN VIVO* ΣΤΟ ΣΗΜΕΙΟ ΤΟΥ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ ΩΣΤΕ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟ (SPIEKER 1996).

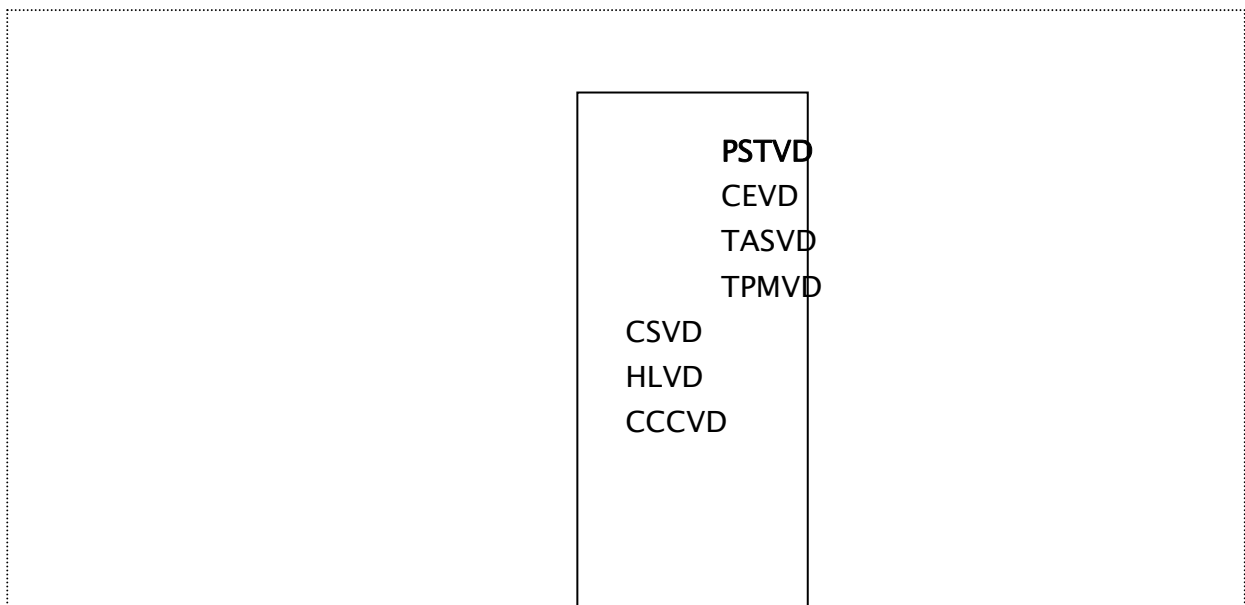
Η ΥΨΗΛΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΜΕΤΑΛΛΑΓΗΣ, Η ΟΠΟΙΑ ΟΦΕΙΛΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΛΛΕΙΨΗ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΗΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣ ΤΟΥ RNA (HOLLAND ET AL 1982), ΕΠΙΤΡΕΠΕΙ ΤΗΝ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΣΕ ΝΕΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ. ΤΟ PSTVD ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ ΕΙΝΑΙ ΙΚΑΝΟ ΝΑ ΜΟΛΥΝΕΙ ΤΟΝ ΚΑΠΝΟ ΜΟΝΟΝ ΑΦΟΥ ΑΠΟΚΤΗΣΕΙ ΜΙΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΣΗΜΕΙΑΚΗ ΜΕΤΑΛΛΑΓΗ (WASSENEGGER ET AL 1994,1996). ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ CEVD ΕΧΕΙ ΕΝΑ ΙΔΙΑΙΤΕΡΑ ΠΛΟΥΣΙΟ ΦΑΣΜΑ ΦΥΣΙΚΩΝ ΞΕΝΙΣΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ ΠΛΟΥΣΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΕΥΕΛΙΞΙΑ. ΟΤΑΝ Η ΤΟΜΑΤΙΑ, ΤΟ ΧΡΥΣΑΝΘΕΜΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΙΑ ΕΣΠΕΡΙΔΟΕΙΔΗ ΕΠΙΜΟΛΥΝΟΝΤΑΙ ΑΛΛΗΛΟΔΙΑΔΟΧΙΚΑ ΜΕ CEVD, ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΟΝ ΚΑΘΕ ΞΕΝΙΣΤΗ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΑ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ (SEMANCIK ET AL 1993).

ΤΟ ΚΑΘΕ ΙΟΕΙΔΕΣ ΕΞΕΛΙΣΣΕΤΑΙ ΜΕΣΩ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΕΩΝ, ΜΙΚΡΩΝ ΕΛΛΕΙΨΕΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΣΘΗΚΩΝ, ΔΕΝ ΛΕΙΠΕΙ ΟΜΩΣ ΚΑΙ Ο ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ. ΜΙΑ ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ ΑΥΤΟΥ ΕΙΝΑΙ Ο ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΕΝΟΣ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ CCCVD (COCONUT CADANG-CADANG VIROID) ΠΟΥ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΣΤΟ ΟΨΙΜΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΤΟΥ ΚΟΚΟΦΟΙΝΙΚΑ (DIENER 1987, HASELOFF ET AL 1982). ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΙΔΙΑΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΚΑΙ ΣΤΟ CEVD (CITRUS EXOCORTIS VIROID) (SEMANCIK ET AL 1993). ΟΜΩΣ ΕΚΕΙ ΠΟΥ ΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΤΟΥ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΝΑ ΕΧΕΙ ΠΑΙΞΕΙ ΚΥΡΙΑΡΧΙΚΟ ΡΟΛΟ ΕΙΝΑΙ ΣΤΗΝ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ. ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΙΟΕΙΔΗ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΘΕΩΡΗΘΟΥΝ ΩΣ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ ΚΑΠΟΙΩΝ ΑΛΛΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ (KEESE AND SYMONS 1985, HAMMOND ET AL 1989), ΕΝΩ ΝΕΑ ΙΟΕΙΔΗ ΕΧΟΥΝ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΕΙ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΕ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟ

ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΑΛΛΩΝ (OWENS ET AL 1990, SANO ET AL 1992, SANO AND ISHIGURO 1997). ΕΤΣΙ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΕΙ ΓΙΑ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΟ ΔΕΝΔΡΟ ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ ΘΑ ΥΠΟΝΟΕΙΤΑΙ Η ΥΠΑΡΞΗ ΕΝΟΣ ΚΟΙΝΟΥ ΠΡΟΓΟΝΟΥ, ΔΙΟΤΙ ΑΚΟΜΗ ΚΑΙ ΑΝ ΑΥΤΟΣ ΚΑΠΟΤΕ ΥΠΗΡΞΕ ΤΑ ΕΚΤΕΤΑΜΕΝΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ ΕΧΟΥΝ ΕΞΑΦΑΝΙΣΕΙ ΤΑ ΙΧΝΗ ΤΟΥ.

E.7 ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΣΕ ΟΜΑΔΕΣ

ΤΟ ΓΕΓΟΝΟΣ ΟΤΙ ΕΝΑ ΙΟΕΙΔΕΣ ΜΟΙΑΖΕΙ ΣΑΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ ΚΑΠΟΙΩΝ ΑΛΛΩΝ (KEESE AND SYMONS 1985, HAMMOND ET AL 1989), ΔΥΣΚΟΛΕΥΕΙ ΤΗΝ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΑ ΑΝΑ ΖΕΥΓΗ ΠΟΣΟΣΤΑ ΟΜΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΣΥΝΟΛΟΥ ΤΗΣ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΗΣ ΑΚΟΛΟΥΘΙΑΣ ΤΟΥΣ. ΤΑ ΠΟΣΟΣΤΑ ΑΥΤΑ, ΠΟΥ ΚΥΜΑΙΝΟΝΤΑΙ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟ 30 ΚΑΙ ΤΟ 77%, ΚΑΤΑΝΕΜΟΝΤΑΙ ΣΧΕΔΟΝ ΤΥΧΑΙΑ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΖΕΥΓΗ. ΕΤΣΙ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΔΙΑΧΩΡΙΣΘΟΥΝ ΤΑ ΙΟΕΙΣΗ ΣΕ ΟΜΑΔΕΣ ΟΠΟΥ ΤΑ ΜΕΛΗ ΜΟΙΑΖΟΥΝ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ, ΣΕ ΟΛΟ ΤΟ ΜΗΚΟΣ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ, ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΑΠΟ ΤΑ ΜΗ ΜΕΛΗ (KOLTUNOW AND REZAIAN 1989). ΟΤΑΝ ΣΥΓΚΡΙΝΕΤΑΙ ΕΝΑ ΙΟΕΙΔΕΣ ΜΕ ΚΑΠΟΙΟ ΑΛΛΟ ΚΑΤΑ ΜΗΚΟΣ ΤΗΣ ΔΙΠΛΗΣ ΕΛΙΚΑΣ ΠΑΡΑΤΗΡΕΙΤΑΙ ΥΨΗΛΗ ΟΜΟΛΟΓΙΑ ΣΕ ΚΑΠΟΙΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΚΑΙ ΧΑΜΗΛΗ ΣΕ ΚΑΠΟΙΕΣ ΑΛΛΕΣ. ΣΤΗ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΕΝΑ ΤΡΙΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ, ΟΙ ΑΝΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΤΗΣ ΟΜΟΙΟΤΗΤΑΣ ΕΝΔΕΧΕΤΑΙ ΝΑ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΚΟΜΗ ΚΑΙ ΝΑ ΑΝΤΙΣΤΡΑΦΕΙ (KEESE AND SYMONS 1985). ΩΣΤΟΣΟ ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΤΑ ΠΡΑΓΜΑΤΑ ΕΙΝΑΙ ΠΙΟ ΑΠΛΑ. Η ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΕΧΕΙ ΒΓΕΙ ΑΠΟ ΤΟ ΕΡΓΟΣΤΑΣΙΟ ΤΗΣ ΕΞΕΛΙΞΗΣ ΣΕ ΔΥΟ ΤΥΠΟΥΣ ΠΟΥ Ο ΚΑΘΕ ΕΝΑΣ ΕΙΝΑΙ ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΑ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΟΣ.



CTIVD

HSVD

ASSVD

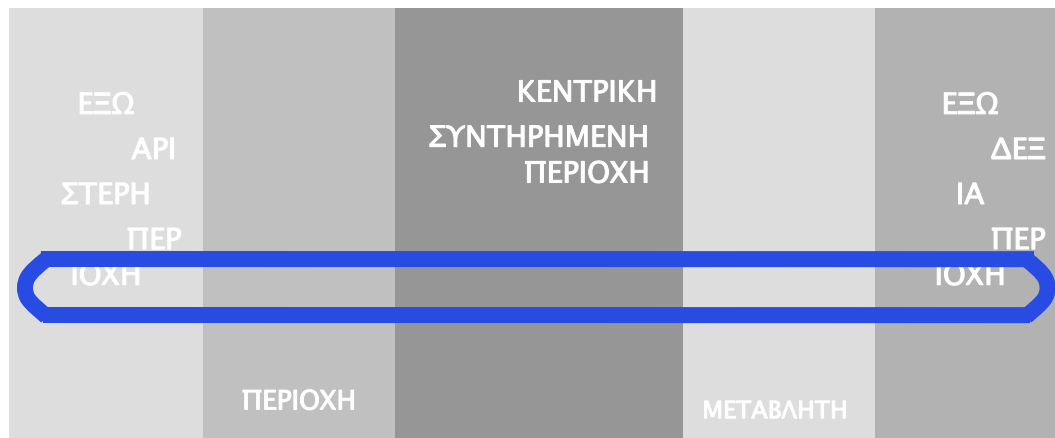
GYSVD

GV1BD

ΤΟ ΚΑΘΕ ΙΟΕΙΔΕΣ ΚΑΤΑΤΑΣΣΕΤΑΙ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟΝ ΤΥΠΟ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ (KOLTUNOW AND REZAIAN 1989). ΤΑ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΑ ΙΟΕΙΔΗ ΕΧΟΥΝ ΤΗΝ ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ PSTVD ΚΑΙ ΑΝΗΚΟΥΝ ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΗ ΟΜΑΔΑ ΕΝΩ ΜΟΝΟ ΤΡΙΑ ΑΝΗΚΟΥΝ ΣΤΗΝ ΔΕΥΤΕΡΗ, ΤΗΝ ΟΜΑΔΑ ΤΟΥ ASSVD (ΣΧΗΜΑ Ε.7). ΟΙ ΑΝΑ ΖΕΥΓΗ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΕΣ ΟΜΟΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΜΕΛΩΝ ΤΗΣ ΠΡΩΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΚΥΜΑΙΝΟΝΤΑΙ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟ 33 ΚΑΙ ΤΟ 77%, ΚΑΙ ΤΗΣ ΔΕΥΤΕΡΗΣ ΣΤΟ 42 ΩΣ 73%.

E.8 ΔΟΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ

ΤΑ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΑ ΙΟΕΙΔΗ ΑΝΗΚΟΥΝ ΣΤΗ ΠΡΩΤΗ, ΤΗΝ ΟΜΑΔΑ ΤΟΥ PSTVD, ΑΦΟΥ ΜΟΙΡΑΖΟΝΤΑΙ ΤΗΝ ΙΔΙΑ ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗ ΠΕΡΙΟΧΗ. ΠΑΡΑΤΗΡΩΝΤΑΣ ΚΑΤΑ ΜΗΚΟΣ ΤΗΣ ΔΙΠΛΗΣ ΕΛΙΚΑΣ ΤΙΣ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΕΣ ΟΜΟΛΟΓΙΕΣ ΤΩΝ ΜΕΛΩΝ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ, ΑΛΛΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΚΑΘΕΝΟΣ, ΔΙΑΚΡΙΝΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΜΟΡΙΟ ΟΙ 5 ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΖΟΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ (KEESE AND SYMONS 1985). ΚΑΠΟΙΕΣ ΑΠΟ ΑΥΤΕΣ (ΣΧΗΜΑ Ε.8) ΕΧΟΥΝ ΞΕΧΩΡΙΣΤΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ.



- **Η κεντρική συντηρημένη περιοχή**

ΕΝΑΙ Η ΠΙΟ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗ ΚΑΙ Η ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΕΝΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ. ΕΚΕΙ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΕΙΤΑΙ Η ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ (+) ΓΡΑΜΜΙΚΩΝ ΟΛΙΓΟΜΕΡΩΝ, ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΩΣ ΕΝΔΙΑΜΕΣΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΣΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ, ΩΣΤΕ ΝΑ ΕΠΑΝΑΠΡΟΚΥΨΕΙ Η ΚΥΚΛΙΚΗ ΜΟΝΟΜΕΡΗΣ ΜΟΡΦΗ.

ΑΝ ΚΑΙ Η ΠΛΕΟΝ ΣΤΑΘΕΡΗ ΚΑΙ ΠΙΟ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΗ ΜΟΡΦΗ ΕΝΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΕΙΝΑΙ Η ΚΥΚΛΙΚΗ, ΤΑ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ RNA ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ ΤΟΥ Ρ5ΤVΔ, ΑΠΟΤΕΛΟΥΝ ΕΠΙΣΗΣ

ΥΛΙΚΟ ΥΨΗΛΗΣ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ (TABLER AND SANGER 1985). ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΟΤΙ ΤΗΝ ΕΙΣΟΔΟ ΤΟΥΣ ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ Η ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥΣ ΩΣΤΕ ΤΑ ΚΥΚΛΙΚΑ ΜΟΝΟΜΕΡΗ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΝΑ ΞΕΚΙΝΟΥΝ ΤΟΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟ ΚΥΚΛΟ. ΤΑ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΜΟΝΟΜΕΡΗ ΕΧΟΥΝ ΠΟΛΥ ΧΑΜΗΛΗ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ, ΕΚΤΟΣ ΕΑΝ ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΤΕΙ Η ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΔΗΛ. ΕΑΝ ΤΟ RNA ΞΕΚΙΝΑ ΚΑΙ ΝΑ ΚΑΤΑΛΗΓΕΙ ΜΕ ΤΟ ΑΝΩ ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ (TABLER AND SANGER 1985). ΤΟ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ ΑΥΤΟ ΣΥΜΠΕΡΙΦΕΡΕΤΑΙ ΩΣ ΤΜΗΜΑ ΕΝΟΣ ΟΛΙΓΟΜΕΡΟΥΣ ΠΟΥ ΦΥΣΙΚΑ ΘΑ ΥΠΟΣΤΕΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.

ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ ΤΕΣΣΕΡΙΣ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΣΧΗΜΑΤΙΣΤΟΥΝ ΣΤΗΝ ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΕΝΗ ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΑΛΛΑ ΜΟΝΟΝ ΜΙΑ ΕΠΙΤΡΕΠΕΙ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΕΝΩ ΑΛΛΗ ΜΙΑ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ (STEGER ET AL 1992, TSAGRIS ET AL 1991, BAUMSTARK ET AL 1997). Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ, ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΑ ΔΙΧΩΣ ΤΗΝ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ ΜΙΑΣ ΕΝΔΟΝΟΥΚΛΕΑΣΗΣ (BAUMSTARK ET AL 1997).

- **Η περιοχή της παθογενεσης**

ΣΕ ΠΟΛΛΑ ΙΟΕΙΔΗ ΕΧΟΥΝ ΒΡΕΘΕΙ ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΟΥ ΔΙΑΦΕΡΟΥΝ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ ΟΣΟΝ ΑΦΟΡΑ ΤΗ ΣΟΒΑΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ. ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΑΥΤΑ ΤΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΑΡΑΤΗΡΕΙΤΑΙ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑ ΣΤΗ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΗ ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ ΤΗΣ ΕΝ ΛΟΓΩ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΠΟΥ ΓΙ ΑΥΤΟΝ ΤΟ ΛΟΓΟ ΟΝΟΜΑΣΤΗΚΕ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗΣ (SCHNOLZER ET AL 1985, HEROLD ET AL 1992, LAKSHMAN AND TAVANTZIS 1993). Η ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΙΣΧΥ ΧΙΜΑΙΡΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΠΟΥ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ Η ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΚΑΘΟΡΙΖΕΤΑΙ ΚΥΡΙΩΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗΣ, ΕΝΩ Η ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑ ΣΕ ΑΛΛΕΣ ΘΕΣΕΙΣ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΚΑΘΟΡΙΣΤΙΚΗ (VISVADER AND SYMONS 1986, SANO ET AL 1992).

Η μελέτη πολυαριθμων μεταλλαγων δεν ανεδειξε καποιο συσχετισμο αναμεσα στην παθογονο ισχυ και την δευτεροταγη δομη της περιοχης παθογενεσης. Αν και ειχε φανει οτι η θερμικη της ασταθεια ειναι καθοριστικη (Schnolzer et al 1985, Lakshman and Tavantzis 1993) το συμπερασμα αυτο δεν ηταν δυνατον να γενικευτει (Hammond 1992, Owens et al 1995). Συμφωνα με την πιο προσφατη εκδοχη, αυτο που εχει σημασια ειναι η γεωμετρια της ελικας. Τα στελεχη στα οποια η ραβδος καμπτεται στην εν λογω περιοχη σε μια συγκεκριμενη κατευθυνση προκαλουν σοβαρα συμπτωματα διχως ωστοσο να ειναι γνωστος ο λογος (Owens et al 1996).

- **Η μεταβλητη περιοχη**

ΕΙΝΑΙ Η ΜΟΝΑΔΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΟΥ ΣΕ ΚΑΘΕ ΙΟΕΙΔΕΣ ΕΧΕΙ ΟΧΙ ΜΟΝΟΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΗ ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ ΑΛΛΑ ΠΟΥ ΣΤΟ ΗΣVD ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΚΑΝ ΒΕΒΑΙΟ ΟΤΙ ΥΠΑΡΧΕΙ (KEESE AND SYMONS 1985). ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΙ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑ ΕΠΙΣΗΣ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΕΝΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΑΝ ΚΑΙ ΟΧΙ ΤΟΣΟ ΜΕΓΑΛΗ ΟΣΟ Η ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗΣ (VISVADER AND SYMONS 1983, SCHNOLZER ET AL 1985, HEROLD ET AL 1992). Η ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΕΠΗΡΕΑΖΕΙ ΤΗΝ ΤΑΧΥΤΗΤΑ ΚΑΙ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΣΤΟ ΦΥΤΟ (VISVADER AND SYMONS 1986, SANO ET AL 1992, HU ET AL 1996).

- **Η εξω αριστερη περιοχη**

ΟΙ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΣΕ ΜΕΓΕΘΟΣ ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΚΥΡΙΩΣ ΣΤΗΝ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ ΜΗΚΟΥΣ ΤΗΣ ΕΞΩ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ (KEESE AND SYMONS 1985). ΕΚΕΙ Η ΔΟΜΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΙ ΤΗΝ ΙΔΙΑΙΤΕΡΟΤΗΤΑ ΟΤΙ Η ΔΙΠΛΗ ΕΛΙΚΑ ΔΙΑΚΛΑΔΩΝΕΤΑΙ ΣΕ ΔΥΟ ΜΙΚΡΟΤΕΡΕΣ. Η ΜΟΝΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑ ΠΟΥ ΑΦΟΡΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΝ ΣΥΣΧΕΤΙΖΕΙ ΕΝΙΟΤΕ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΠΟΙΩΝ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΩΝ (SANO ET AL 1992).

- **Η εξω δεξια περιοχη**

ΕΝΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΟ ΑΥΤΗΣ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΕΙΝΑΙ Ο ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΟΥ ΠΑΡΑΤΗΡΕΙΤΑΙ ΕΝΙΟΤΕ ΣΤΑ ΙΟΕΙΔΗ CCCVD (CADANG CADANG VIROID) (HASELOF ET AL 1982) ΚΑΙ CEVD (CITRUS EXOCORTIS VIROID) (SEMANCIK ET AL 1993).

ΕΙΝΑΙ Η ΜΟΝΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΣΤΗ ΟΠΟΙΑ ΕΧΟΥΝ ΒΡΕΘΕΙ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΠΟΥ ΔΕΝ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΤΟΥ Ρ5ΤΥD ΔΙΧΩΣ ΩΣΤΟΣΟ ΝΑ ΕΠΙΤΡΕΠΟΥΝ ΤΗΝ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΗ ΤΟΥ ΣΤΟ ΦΥΤΟ (HAMMOND AND OWENS 1987, HAMMOND 1994). ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΤΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΑΥΤΗΣ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΠΙΘΑΝΟΤΑΤΑ ΕΙΝΑΙ Η ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ, ΚΟΝΤΙΝΗ Η/ΚΑΙ ΜΑΚΡΙΝΗ, ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΣΤΟ ΦΥΤΟ.

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Η ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΚΙΝΕΙΤΑΙ ΣΤΗΝ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΖΗΤΗΣΗΣ ΤΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΜΕΝΩΝ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΚΑΙ ΤΗ ΣΧΕΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥΣ. ΕΓΙΝΕ ΕΜΦΑΝΕΣ ΑΠΟ ΤΑ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΑ ΟΤΙ ΚΑΘΕ ΙΟΕΙΔΕΣ ΕΙΝΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ «ΣΥΡΡΑΦΗΣ» ΚΑΠΟΙΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ. Η ΚΑΘΕ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΕΙΝΑΙ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΗ ΧΑΡΗ ΣΤΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟ ΤΗΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΚΑΙ ΕΙΝΑΙ ΤΟΠΟΘΕΤΗΜΕΝΗ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΙΣ ΑΛΛΕΣ ΕΤΣΙ ΩΣΤΕ ΝΑ ΣΥΝΕΙΣΦΕΡΕΙ, ΕΠΙΤΡΕΠΟΝΤΑΣ ΤΗΝ ΣΥΝΕΙΣΦΟΡΑ ΤΩΝ ΑΛΛΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ, ΣΤΗΝ ΣΩΣΤΗ ΧΡΟΝΙΚΗ ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ, ΩΣΤΕ ΤΟ ΜΟΡΙΟ ΝΑ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΖΕΤΑΙ ΚΑΙ ΝΑ ΜΕΤΑΔΙΔΕΤΑΙ. ΟΙ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ ΑΥΤΕΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΖΟΥΝ ΕΝΑ ΠΕΔΙΟ ΑΝΑΠΑΝΤΗΤΩΝ ΕΡΩΤΗΜΑΤΩΝ. ΠΩΣ Η ΚΑΘΕ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΦΕΡΕΙ ΤΟ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΚΑΙ ΓΙΑΤΙ Η ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΔΙΑΤΑΞΗ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ΕΙΝΑΙ Η ΚΑΤΑΛΛΗΛΗ; ΠΟΙΑ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΔΕΝ ΑΦΑΙΡΕΙ ΤΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΟΙΑ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΤΟ ΒΕΛΤΙΩΝΕΙ ΣΤΟ ΚΑΘΕ ΦΥΤΙΚΟ ΕΙΔΟΣ, ΩΣΤΕ ΝΑ ΔΙΑΜΟΡΦΩΝΟΝΤΑΙ ΟΙ ΠΑΡΑΤΗΡΟΥΜΕΝΟΙ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΙ ΙΟΕΙΔΩΝ/ΞΕΝΙΣΤΩΝ;

Η ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΜΕΝΩΝ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΜΙΑ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΠΡΟΥΠΟΘΕΤΕΙ ΤΗΝ ΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΣΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΣΥΜΜΕΤΕΧΕΙ. ΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΔΙΑΜΟΡΦΩΝΕΙ ΜΙΑ «ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ» ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΕΠΑΦΗΣ, ΣΤΗΝ ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ ΚΑΙ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ. ΑΠΟ ΤΗΝ ΜΙΑ ΠΛΕΥΡΑ ΤΗΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΤΟ RNA ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΚΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΛΛΗ ΟΙ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟΙ (ΚΑΙ ΑΛΛΟΙ) ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ. ΑΠΟ ΑΥΤΟΥΣ ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ Η ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΑΠΟ ΤΗΝ RNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ ΤΥΠΟΥ II, Η ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΓΡΑΜΜΙΚΩΝ ΟΛΙΓΟΜΕΡΩΝ ΚΑΙ Η ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΓΙΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΗ, ΚΑΙ ΕΞΑΙΤΙΑΣ ΤΟΥΣ Η ΚΥΡΤΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ ΟΔΗΓΕΙ ΣΕ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ.

Η ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΙΝΑΙ ΜΙΑ ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΑ ΕΞΕΡΕΥΝΗΣΗΣ ΑΥΤΗΣ ΤΗΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ. Η ΘΕΣΗ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΜΙΑΣ ΤΕΤΟΙΑΣ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΔΙΑΔΡΟΜΗΣ ΤΟΠΟΘΕΤΕΙΤΑΙ ΑΥΤΟΝΟΗΤΑ ΣΕ ΚΑΠΟΙΟΝ ΞΕΝΙΣΤΗ, ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΟΥ PSTVD ΣΤΗΝ ΤΟΜΑΤΙΑ. ΤΟ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟ ΦΥΤΟ ΕΙΝΑΙ ΕΥΚΟΛΟ ΝΑ ΜΕΛΕΤΗΘΕΙ, ΩΣΤΟΣΟ ΔΕΝ ΠΑΥΕΙ ΝΑ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΙ ΤΙΣ ΔΥΣΚΟΛΙΕΣ ΤΟΥ ΚΑΘΕ

ΠΟΛΥΚΥΤΤΑΡΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ. ΣΤΟ ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΠΡΟΗΓΗΘΗΚΕ ΧΡΟΝΙΚΑ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΥ ΜΕΡΟΥΣ, ΑΝΑΖΗΤΗΘΗΚΕ ΜΙΑ ΘΕΣΗ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ ΓΙΑ ΜΙΑ ΠΙΟ ΠΡΟΣΠΕΛΑΣΙΜΗ ΔΙΑΔΡΟΜΗ ΔΗΛ. ΜΕΣΩ ΕΝΟΣ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΟΥ ΕΥΚΑΡΙΩΤΙΚΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ, ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ. ΣΤΟ ΜΕΤΑΞΥ, ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΕ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΠΟΥ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΕ Η ΔΙΑΤΡΙΒΗ Ο ΠΡΩΤΟΣ ΦΥΤΙΚΟΣ CDNA ΚΛΩΝΟΣ ΠΟΥ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΤΟΥ ΠΡΟΙΟΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΕΙΔΙΚΑ ΜΕ ΙΟΕΙΔΗ. ΤΟ ΠΡΩΤΟ ΜΕΡΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΤΗΝ ΔΙΑΔΡΟΜΗ ΠΟΥ ΟΡΙΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΑΥΤΟ ΤΟ ΕΥΡΗΜΑ.

ΠΡΩΤΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΘΕΣΗΣ
ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ
ΤΗΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1
ΣΤΑ ΙΟΕΙΔΗ

ΠΡΩΤΟ ΜΕΡΟΣ
ΕΙΣΑΓΩΓΗ



ΙΕ.1 ΤΟ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΥ ΜΕΡΟΥΣ

Στην γενική εισαγωγή συνοψίστηκαν πληροφορίες για τα μη αυτοκαταλυτικά ιοειδή και για το πώς επηρεάζουν και επηρεάζονται από τους ξενιστές τους. Οι διαδικασίες μέσω των οποίων διακλωνίζονται τα ιοειδή είναι ως ένα βαθμό γνωστές (αντιγραφή, επεξεργασία, μεταφορά). Κάθε ιοειδές είναι ένα πλαστογραφημένο αδειών καταλληλότητας για αντιγραφή, επεξεργασία και μεταφορά, αφού η διείσδυση του μορίου στο βιομοριακό σύστημα του ξενιστή αναμφισβητά οφείλεται στην ικανότητα του μορίου να ξεγελά τις καταλλήλες φυτικές πρωτεΐνες. Ποιες είναι οι εν λόγω πρωτεΐνες, ποιο τμήμα ενός ιοειδούς φέρει την πληροφορία για την προσέγγιση της κάθε μιας και ποια είναι αυτή η πληροφορία, είχε παραμείνει αγνώστο. Από την πληθώρα των στοιχείων που έχουν συσσωρευθεί για τα ιοειδή και τη σχέση τους με τους ξενιστές τους, απουσίαζαν τα σημεία άμεσης φυσικής επαφής του μορίου με το βιομοριακό του περιβάλλον. Ένα τέτοιο σημείο θα μελετηθεί στο ΠΡΩΤΟ ΜΕΡΟΣ της παρούσας διατριβής. Προκειται για την αλληλεπίδραση των ιοιδών της ομάδας του PSTVd (ιοειδές των ατρακτοειδών κονδυλών της πατάτας) με την πρωτεΐνη X1 της τοματίας. Η βασική μέθοδος μελέτης της αλληλεπίδρασης θα είναι το Σύστημα των Τριών Υβριδίων, το οποίο θα περιγραφεί παρακάτω (ΙΕ.3) αφού προηγηθούν κάποια στοιχεία για την πρωτεΐνη X1 (ΙΕ.2).

ΙΕ.2 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΪΝΗ Χ1

Η Χ1 ΕΙΝΑΙ Η ΠΡΩΤΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΠΟΥ ΒΡΕΘΗΚΕ ΝΑ ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΕΙΔΙΚΑ ΣΕ ΙΟΕΙΔΗ. ΠΡΟΕΡΧΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗ ΤΟΜΑΤΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΚΑΛΥΦΘΗΚΕ ΧΑΡΗ ΣΤΗΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΝΑ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ PSTVD (SAEGESSER ET AL 1997, MARTINEZ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ). ΤΟ PSTVD (POTATO SPINDLE TUBER VIROID) ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΠΡΩΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΠΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΕ ΚΑΙ ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΚΑΛΥΤΕΡΑ ΜΕΛΕΤΗΜΕΝΟ. ΒΡΕΘΗΚΕ ΓΙΑ ΠΡΩΤΗ ΦΟΡΑ ΣΤΗΝ ΠΑΤΑΤΙΑ (*SOLANUM TUBEROSUM*), ΑΠΟ ΟΠΟΥ ΟΝΟΜΑΣΤΗΚΕ, ΑΛΛΑ ΕΧΕΙ ΕΝΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΠΛΟΥΣΙΟ ΕΥΡΟΣ ΞΕΝΙΣΤΩΝ. ΤΩΡΑ ΠΛΕΟΝ ΟΙ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΓΙΑ ΤΟ PSTVD ΓΙΝΟΝΤΑΙ ΣΕ ΤΟΜΑΤΙΑ.

ΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΠΟΥ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΑΥΤΗ Η ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΙΧΕ ΕΝΔΙΑΦΕΡΘΕΙ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ ΠΟΥ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΟ PSTVD. ΑΝΑΠΤΥΧΘΗΚΕ ΛΟΙΠΟΝ ΕΝΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΟ ΠΟΥ ΚΑΘΙΣΤΑ ΔΥΝΑΤΗ ΤΗΝ ΣΑΡΩΣΗ ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΩΝ CDNA ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΩΝ, ΜΕ RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ (SAEGESSER ET AL 1997). Η ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΦΑΡΜΟΣΤΗΚΕ ΣΕ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ ΑΠΟ ΦΥΛΛΑ ΤΟΜΑΤΙΑΣ, ΜΕ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ ΤΟ RNA ΤΟΥ PSTVD. ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΕ ΜΙΑ ΟΜΑΔΑ ΚΛΩΝΩΝ ΠΟΥ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΟΥΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΚΑΡΒΟΞΥΤΕΛΙΚΑ ΤΜΗΜΑΤΑ ΜΙΑΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΔΟΘΗΚΕ ΤΟ ΟΝΟΜΑ Χ1 (MARTINEZ Ε, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ).

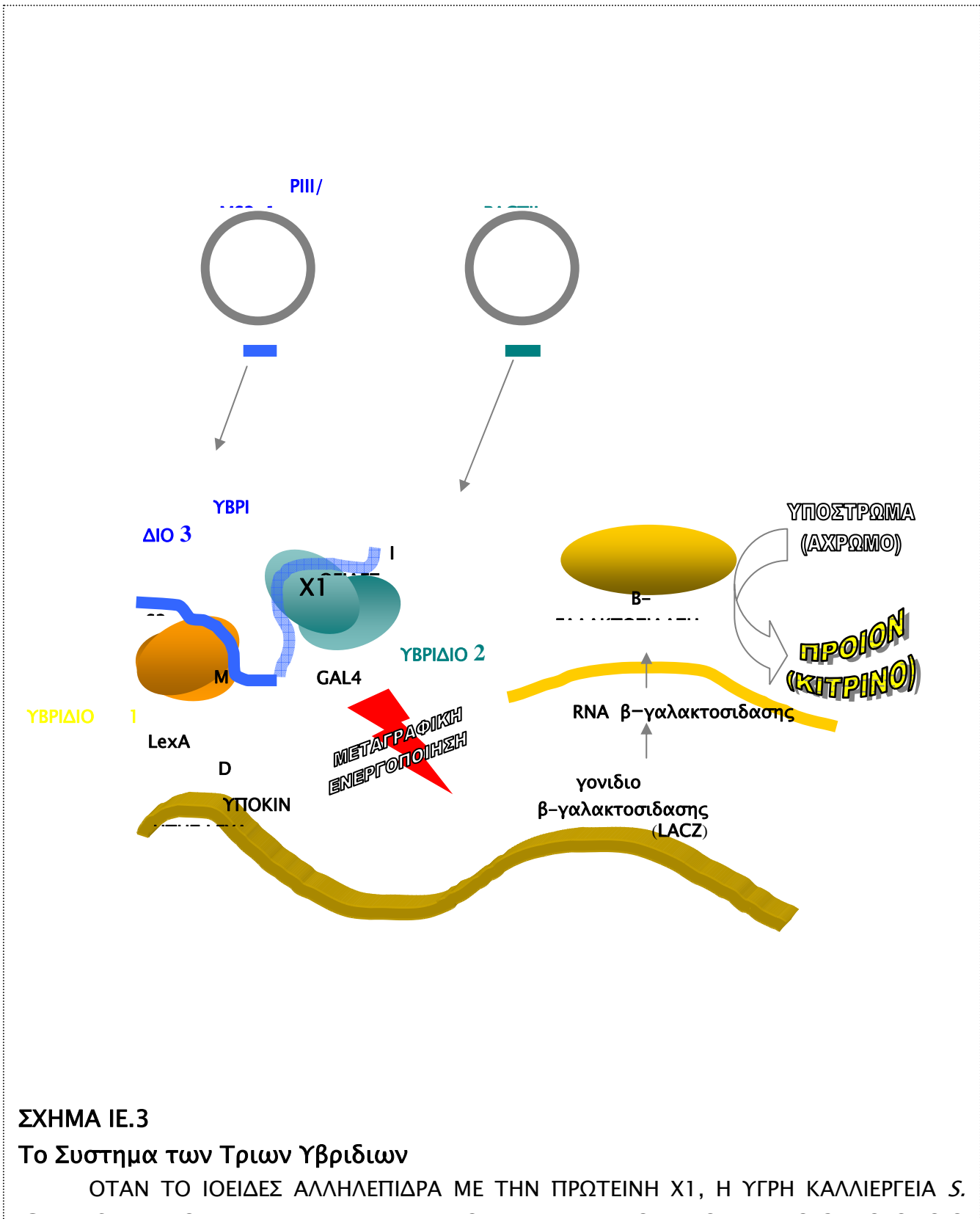
Ο ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΕΝΟΣ ΚΛΩΝΟΣ ΤΗΣ Χ1 ΕΧΕΙ ΜΕΓΕΘΟΣ 2,4 ΚΒ ΚΑΙ Ο ΜΙΚΡΟΤΕΡΟΣ 1,4 ΚΒΡ. ΤΑ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΑ ΑΝΟΙΧΤΑ ΠΛΑΙΣΙΑ ΑΝΑΓΝΩΣΗΣ ΕΙΝΑΙ 1,8 ΚΑΙ 1,0 ΚΒΡ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΑ. ΣΤΑ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΚΑΙ ΤΩΝ ΔΥΟ ΚΛΩΝΩΝ ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΙΣΧΥΡΑ ΤΟ ΗΑ106, ΕΝΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ ΤΟΥ PSTVD, ΜΗΚΟΥΣ 406 ΒΑΣΕΩΝ, ΠΟΥ ΞΕΚΙΝΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΛΗΓΕΙ ΜΕ ΤΟ ΑΝΩ ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ. ΜΕ ΤΟ ΙΔΙΟ *IN VITRO* ΠΡΩΤΟΚΟΛΟ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΓΙΑ ΤΗΝ ΣΑΡΩΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ, ΔΕΙΧΤΗΚΕ ΟΤΙ ΜΕ ΤΗΝ Χ1 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΕΠΙΣΗΣ ΠΕΝΤΑΜΕΡΗ (+) PSTVD RNA ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ (+) ΔΙΜΕΡΗ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ HSVD (HOP STUNT VIROID). ΔΕΝ ΠΑΡΑΤΗΡΕΙΤΑΙ ΠΡΟΣΔΕΣΗ ΣΕ (-) ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ ΤΟΥ PSTVD ΟΥΤΕ ΣΕ ΑΛΛΑ ΜΗ ΙΟΕΙΔΙΚΑ RNA (MARTINEZ Ε, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ).

ΤΟ Χ1 RNA ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΕ ΟΛΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ, ΠΑΡΟΜΟΙΩΣ ΚΑΙ Η Χ1 ΠΡΩΤΕΙΝΗ Η ΟΠΟΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΕΤΑΙ ΠΟΛΥ ΚΑΛΥΤΕΡΑ ΣΕ ΠΥΡΗΝΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΑΠΟ ΦΥΛΛΑ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ. ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ, ΜΗΚΟΥΣ 603 ΑΜΙΝΟΞΙΚΩΝ ΚΑΤΑΛΟΙΠΩΝ, ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΣΗΜΑΤΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΥ (NUCLEAR LOCALIZATION SIGNAL) ΚΑΙ ΕΝΑ ΒΡΟΜΟΔΟΜΑΙΝ (MARTINEZ Ε, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ).

ΙΕ.3 ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ

ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΕΙΝΑΙ Η ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΒΑΣΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ. ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΥΤΟ ΓΙΝΕΤΑΙ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΥΠΑΡΧΟΥΣΑΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΜΕ RNA. Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΚΑΙ ΤΟ RNA ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΟΠΟΙΟΝΔΗΠΟΤΕ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ, ΑΡΚΕΙ ΜΟΝΑΧΑ ΝΑ ΠΑΡΑΧΘΟΥΝ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΛΛΗΛΗ ΜΟΡΦΗ ΜΕΣΑ ΣΤΟ ΚΑΤΑΛΛΗΛΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ. ΕΑΝ ΤΑ ΔΥΟ ΜΟΡΙΑ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΟΥΝ, Η ΥΓΡΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΑΠΟΚΤΑ ΚΙΤΡΙΝΟ ΧΡΩΜΑ. ΑΥΤΟ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΔΙΟΤΙ, ΛΟΓΩ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ, ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΤΑΙ ΕΝΑ ΒΙΟΜΟΡΙΑΚΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ ΠΟΥ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙ ΤΗΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ LACZ ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΗΝ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗ. ΤΟ ΕΝΖΥΜΟ ΑΥΤΟ ΜΕΤΑΤΡΕΠΕΙ ΤΟ ΑΧΡΩΜΟ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΟΝΡG ΣΕ ΕΝΑ ΠΡΟΙΟΝ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΚΙΤΡΙΝΟ ΧΡΩΜΑ. ΤΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ ΠΟΥ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙ ΤΗΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΤΟΥ LACZ ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΤΡΙΑ ΥΒΡΙΔΙΑ, ΕΞ ΟΥ ΚΑΙ ΤΟ ΟΝΟΜΑ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ. ΤΑ ΔΥΟ ΕΙΝΑΙ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΑ ΚΑΙ ΤΟ ΤΡΙΤΟ ΕΙΝΑΙ RNA. ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΕΙ ΩΣ ΓΕΦΥΡΑ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΔΥΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΑ ΟΠΩΣ ΠΕΡΙΓΡΑΦΕΤΑΙ ΣΤΗ ΣΥΝΕΧΕΙΑ.



ΣΧΗΜΑ ΙΕ.3

Το Συστημα των Τριων Υβριδιων

ΟΤΑΝ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1, Η ΥΓΡΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ Σ.

ΟΙ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΙ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΕΣ ΑΠΟΤΕΛΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ ΜΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΑΠΟ ΜΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΣΤΟ DNA. ΟΙ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΑΥΤΕΣ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΗΣΟΥΝ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΑ Η ΜΙΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΛΛΗ ΑΚΟΜΑ ΚΑΙ ΟΤΑΝ ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΟΥΝ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΧΘΟΥΝ ΜΕ ΚΑΠΟΙΑ ΑΛΛΗ ΠΡΩΤΕΙΝΗ. ΓΙΑ ΝΑ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΙ ΟΜΩΣ Η ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΠΡΕΠΕΙ ΟΙ ΔΥΟ ΝΑ ΣΥΝΕΥΡΕΘΟΥΝ ΣΤΟ ΙΔΙΟ ΜΟΡΙΑΚΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ. ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΜΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΟ ΕΝΑ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ, ΕΝΩ ΤΟ ΑΛΛΟ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΜΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΣΤΟ DNA. ΚΑΙ ΤΑ ΔΥΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΑ ΥΒΡΙΔΙΑ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ ΑΠΟ ΜΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΠΟΥ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ RNA. Η ΜΙΑ ΑΠΟ ΑΥΤΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΟ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ ΤΜΗΜΑΤΑ ΤΟΥ RNA ΥΒΡΙΔΙΟΥ, ΕΝΩ Η ΑΛΛΗ ΜΕ ΤΟ ΥΠΟΛΟΙΠΟ. ΜΕ ΑΥΤΟ ΤΟΝ ΕΜΜΕΣΟ ΤΡΟΠΟ, Η ΠΕΡΙΟΧΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ Η ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΣΤΟ DNA ΣΥΝΕΥΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΙΔΙΟ ΜΟΡΙΑΚΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ. ΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΕΙΝΑΙ Η ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΑΝΑΦΟΡΑΣ.

ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΑ:

ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΕΙΝΑΙ ΤΟ LACZ ΓΟΝΙΔΙΟ ΣΤΗΝ 5' ΠΛΕΥΡΑ ΤΟΥ ΟΠΟΙΟΥ ΕΧΕΙ ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΕΙ Η ΘΕΣΗ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΗ LEXA. ΕΚΕΙ ΘΑ ΠΡΟΣΔΕΘΕΙ Η ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΣΤΟ DNA ΤΟΥ LEXA ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΗ (LEXA DNA B.D.).

ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ-ΥΒΡΙΔΙΟ-1 ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΣΤΟ DNA ΤΟΥ LEXA ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΗ (LEXA DNA B.D.) ΚΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΤΟΥ ΚΑΨΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΦΑΓΟΥ MS2 (MS2COAT).

ΤΟ RNA-ΥΒΡΙΔΙΟ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΕΝΑ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ RNA ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΦΑΓΟΥ MS2 ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΤΟΥ ΚΑΨΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΦΑΓΟΥ MS2 (MS2COAT). ΔΙΠΛΑ ΣΤΟ MS2 RNA ΤΟΠΟΘΕΤΕΙΤΑΙ ΤΟ RNA ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ, ΠΟΥ ΣΤΗΝ ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΝΑΙ ΤΟ RNA ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ.

ΣΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ-ΥΒΡΙΔΙΟ-2 ΘΑ ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΕΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ, Η Χ1, ΔΙΠΛΑ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΟΥ GAL4 ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΗ (GAL4 A.D.).

ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΚΑΙ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ-ΥΒΡΙΔΙΟ-1 ΕΙΝΑΙ ΣΤΑΘΕΡΑ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΕΝΣΩΜΑΤΩΜΕΝΑ ΣΤΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ L40-COAT ΤΟΥ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*. ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ-ΥΒΡΙΔΙΟ-2 ΚΑΙ ΤΟ RNA-ΥΒΡΙΔΙΟ ΜΕΤΑΒΑΛΛΟΝΤΑΙ ΚΑΤΑ ΒΟΥΛΗΣΗ, ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΚΑΙ ΤΟ RNA ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ, ΚΑΙ ΓΙ ΑΥΤΟ ΕΚΦΡΑΖΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟΥΣ ΦΟΡΕΙΣ, ΤΟΝ PACTII ΚΑΙ ΤΟΝ PIII/MS2-1 ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ.

ΠΡΩΤΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ X1 ΜΕ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ PSTVD
ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ

11.1 ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΤΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ 1 ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

ΜΕ ΤΗΝ *IN VITRO* ΜΕΘΟΔΟ ΣΑΡΩΣΗΣ ΠΟΥ ΑΝΑΠΤΥΧΘΗΚΕ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ (SAEGESSER *ET AL*, 1997) ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΑΝ ΚΛΩΝΟΙ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1 (MARTINEZ Ε, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ). ΤΟ ΚΡΙΤΗΡΙΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΗΤΑΝ Η ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΠΛΑΚΩΝ ΣΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΕΚΦΡΑΖΟΤΑΝ Ο ΚΑΘΕ ΚΛΩΝΟΣ ΝΑ ΠΡΟΣΔΕΝΟΥΝ ΤΟ ΡΑΔΙΟΣΗΜΑΣΜΕΝΟ RNA ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΤΩΝ ΑΤΡΑΚΤΟΕΙΔΩΝ ΚΟΝΔΥΛΩΝ ΤΗΣ ΠΑΤΑΤΑΣ (ΡΟΤΑΤΟ SPINDLE TUBER VIROID, PSTVD). ΜΕ ΤΗΝ ΙΔΙΑ ΜΕΘΟΔΟ ΕΛΕΓΘΗΚΕ ΑΝ ΟΙ ΚΛΩΝΟΙ ΠΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΑΝ ΠΡΟΣΔΕΝΟΥΝ ΕΠΙΣΗΣ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ HSVD (HOP STUNT VIROID) ΚΑΙ ΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΗΤΑΝ ΘΕΤΙΚΟ (MARTINEZ Ε, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ). ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΚΑΙ ΤΑ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΣΤΟ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟ *IN VITRO* ΣΥΣΤΗΜΑ. ΑΝ ΟΜΩΣ ΟΙ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΙΝΑΙ ΟΙ ΜΟΝΕΣ ΚΑΤΩ ΑΠΟ ΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΗ Η ΠΡΟΣΔΕΣΗ, ΤΟΤΕ, ΕΦΟΣΟΝ ΑΥΤΕΣ ΟΙ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΣΤΑ ΦΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ, ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΛΟΓΟΣ ΝΑ ΠΙΣΤΕΥΟΥΜΕ ΟΤΙ ΤΑ ΔΥΟ ΜΟΡΙΑ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ *IN PLANTA*. ΕΝΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΓΙΑ ΜΕΛΕΤΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΠΟΛΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΑΠΟ ΑΥΤΟ ΤΗΣ *IN VITRO* ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΡΟΣΦΕΡΕΤΑΙ ΑΠΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ (SENGURTA *ET AL*, 1997). ΣΕ ΑΥΤΟ Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΙΑΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΜΕ ΕΝΑ RNA ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ *IN VIVO*, ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ. ΕΤΣΙ Η ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1 ΜΕ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΜΕΤΑΦΕΡΘΗΚΕ ΕΚΕΙ.

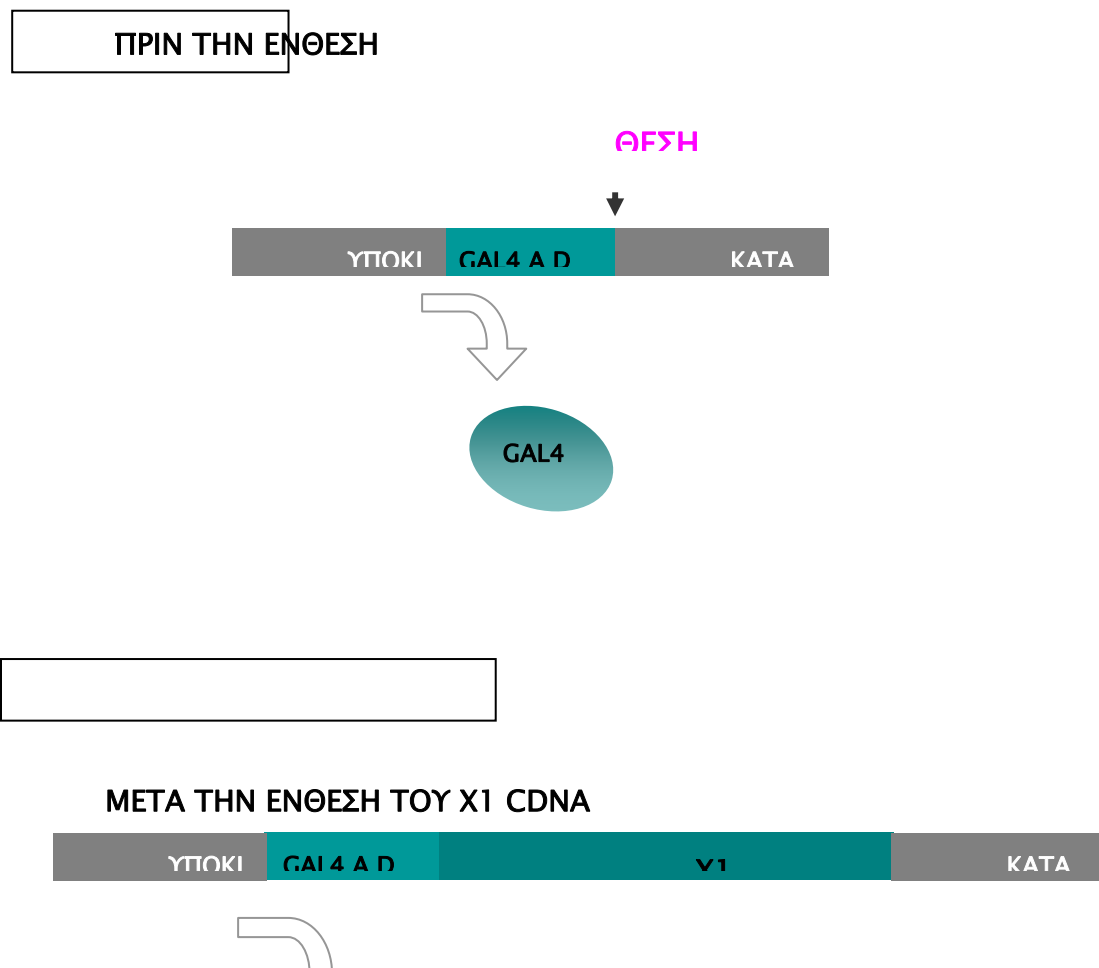
ΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΕΙΝΑΙ ΕΝΑ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΚΑΙ ΔΥΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟΙ ΦΟΡΕΙΣ:

- ΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ L40-COAT ΤΟΥ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ΣΤΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ ΤΟΥ ΟΠΟΙΟΥ ΕΧΟΥΝ ΕΝΣΩΜΑΤΩΘΕΙ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΚΑΙ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ-ΥΒΡΙΔΙΟ-1. ΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΕΙΝΑΙ ΑΥΞΟΤΡΟΦΟ ΓΙΑ ΛΕΥΚΙΝΗ ΚΑΙ ΓΙΑ ΟΥΡΑΚΙΛΗ ΚΑΙ ΘΑ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΕΙ ΜΕ ΤΟΥΣ ΔΥΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟΥΣ ΦΟΡΕΙΣ ΠΟΥ ΘΑ ΕΚΦΡΑΣΟΥΝ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ-ΥΒΡΙΔΙΟ-2 ΚΑΙ ΤΟ RNA-ΥΒΡΙΔΙΟ.
- ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ PACTII ΧΡΗΣΙΜΕΥΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟΥ ΦΟΡΕΑ ΑΠΟ ΤΟΝ ΟΠΟΙΟ ΘΑ ΕΚΦΡΑΣΤΕΙ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ-2. ΕΙΝΑΙ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ

ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΑΝΤΙΤΥΠΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΗΡΩΝΕΙ ΤΗΝ ΑΥΞΟΤΡΟΦΙΑ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ L40-COAT ΓΙΑ ΤΗΝ ΛΕΥΚΙΝΗ. ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΤΟΝ ΥΨΗΛΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΑΔΗ, ΥΠΟ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΟΥ ΟΠΟΙΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΤΑΙ Η ΠΕΡΙΟΧΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ GAL4 (GAL4 ACTIVATION DOMAIN, GAL4 A.D.). ΣΤΟ 3' ΤΟΥ GAL4 CDNA ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΜΙΑ ΣΕΙΡΑ ΜΟΝΑΔΙΚΩΝ ΘΕΣΕΩΝ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ (POLYLINKER) ΟΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΕΙ ΤΟ CDNA ΤΗΣ Χ1 (ΣΧΗΜΑ 11.1Α) .

ΣΧΗΜΑ 11.1α

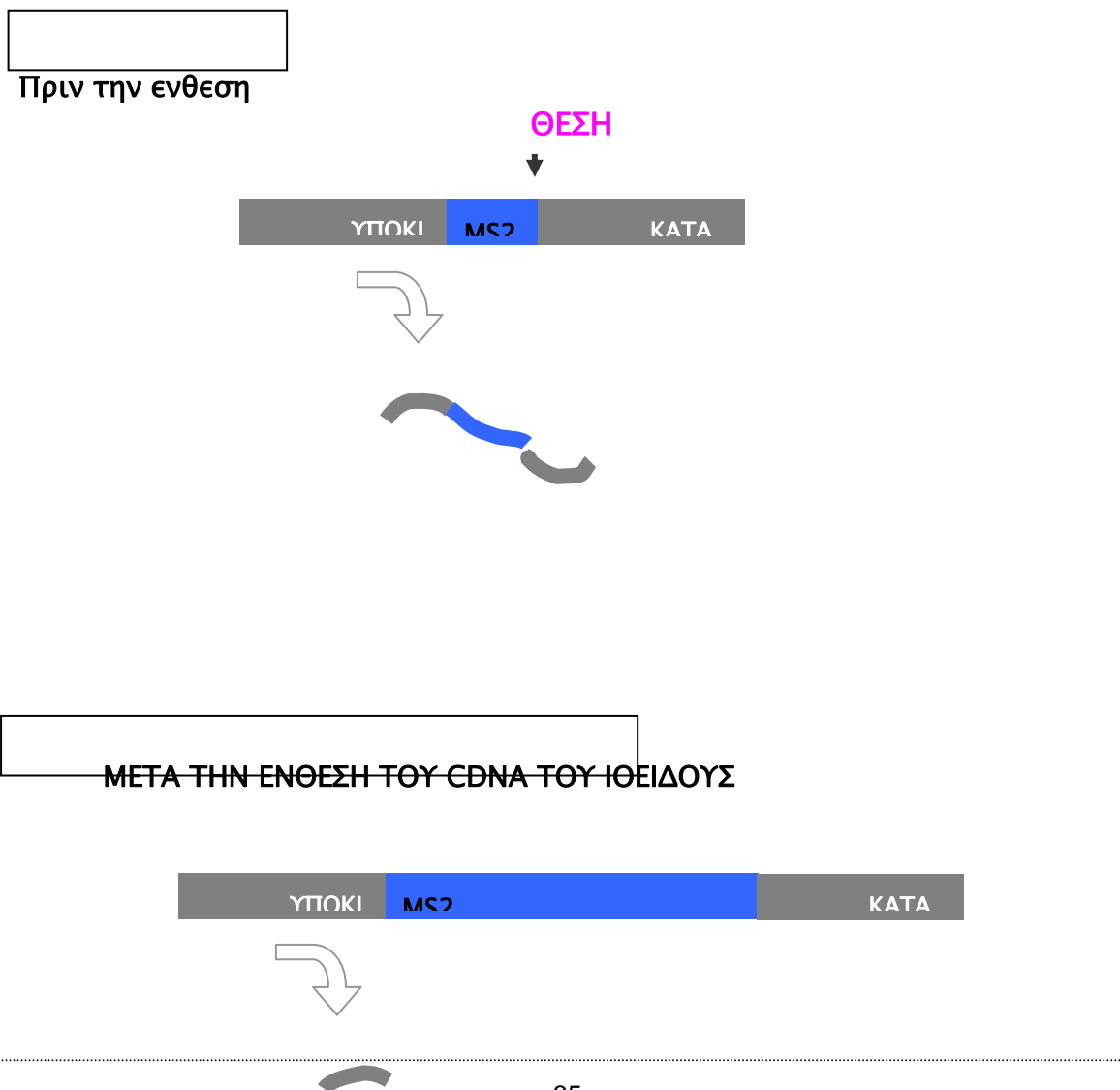
Η ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ ΡΑСТ11 ΣΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΓΙΝΕΤΑΙ Η ΕΝΘΕΣΗ ΤΟΥ Χ1 CDNA ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΕΚΦΡΑΣΤΕΙ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ 2.

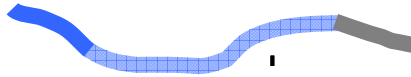


- **ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ PIII/MS2-1 ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ.** ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΑΝΤΙΤΥΠΩΝ ΠΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΝΕΙ ΤΗΝ ΑΥΞΟΤΡΟΦΙΑ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ L40-COAT ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΥΡΑΚΙΛΗ. ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΤΟΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ RPR (RNASE P RNA), ΥΠΟ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΟΥ ΟΠΟΙΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΤΑΙ ΤΟ MS2 RNA. ΣΤΟ 3' ΤΟΥ MS2 CDNA ΥΠΑΡΧΕΙ ΜΙΑ ΘΕΣΗ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΟΠΟΘΕΤΗΣΗ ΤΟΥ CDNA ΤΟΥ RNA ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ ΠΟΥ ΣΤΗΝ ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ (ΣΧΗΜΑ 11.1B)

ΣΧΗΜΑ 11.1β

Η ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIII/MS2-1 ΣΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΓΙΝΕΤΑΙ Η ΕΝΘΕΣΗ ΤΟΥ CDNA ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΕΚΦΡΑΣΤΕΙ ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ.





RNA ΥΒΡΙΔΙΟ

Η ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ:

- ΤΗΝ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΤΩΝ ΔΥΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΩΝ ΦΟΡΕΩΝ ΠΟΥ ΘΑ ΕΚΦΡΑΣΟΥΝ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ ΚΑΙ ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ
- ΤΟΝ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ L40-COAT ΜΕ ΤΟ ΖΕΥΓΟΣ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΩΝ ΚΑΤΑΣΚΕΥΩΝ, ΩΣΤΕ ΤΑ ΔΥΟ ΥΒΡΙΔΙΑ ΝΑ ΣΥΝΕΚΦΡΑΖΟΝΤΑΙ ΣΤΙΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ
- ΤΗΝ ΕΝΖΥΜΑΤΙΚΗ ΔΟΚΙΜΗ ΤΗΣ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗΣ ΣΤΙΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

11.2 Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΜΕ ΤΟ HA106 RNA ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ PSTVD

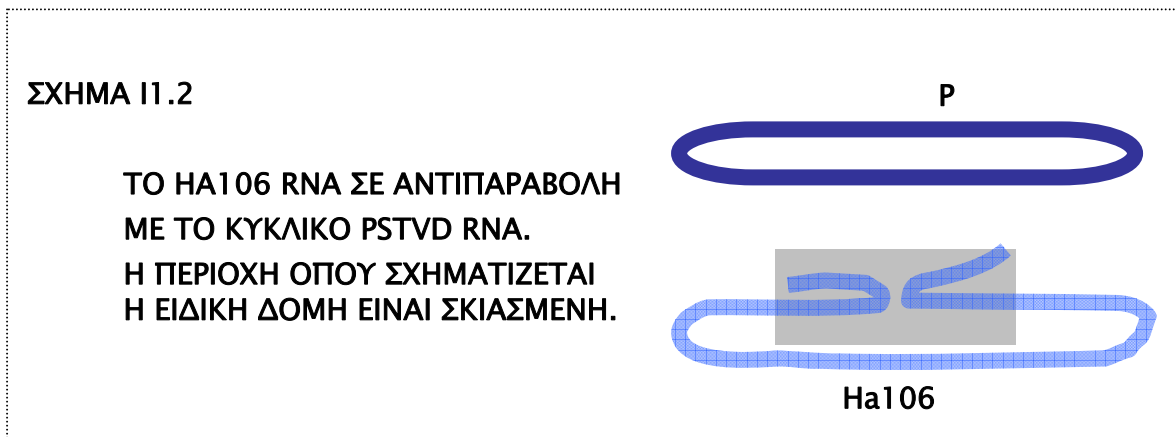
Σχεδιασμός του ζευγους των υβριδιων

- ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ AD -Χ1CT

ΜΕ ΤΗΝ ΣΚΕΨΗ ΟΤΙ ΕΝΑ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ Χ1 ΜΙΚΡΟΤΕΡΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΘΑ ΕΙΝΑΙ ΔΟΜΙΚΑ ΣΤΑΘΕΡΟΤΕΡΟ ΚΑΙ ΘΑ ΕΠΙΤΡΕΠΕΙ ΤΟΝ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΕΝΟΣ ΠΙΟ ΣΥΜΠΑΓΟΥΣ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ, ΕΠΙΛΕΧΤΗΚΕ Ο ΜΙΚΡΟΤΕΡΟΣ ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΣ ΚΛΩΝΟΣ ΤΗΣ Χ1. ΤΟ ΕΝΘΕΜΑ ΕΧΕΙ ΜΕΓΕΘΟΣ 1,4 ΚΒ ΜΕ ΕΝΑ ΑΝΟΙΧΤΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΑΝΑΓΝΩΣΗΣ 1,0 ΚΒ (MARTINEZ Ε, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ). ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΟΝ ΦΟΡΕΑ ΡΑСТII ΚΑΙ ΕΔΩΣΕ ΤΗΝ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ Χ1CTACTII. ΑΠΟ ΑΥΤΗ ΕΚΦΡΑΖΕΤΑΙ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ AD-Χ1CT, ΠΟΥ Η ΑΜΙΝΟΤΕΛΙΚΗ ΤΟΥ ΠΛΕΥΡΑ ΕΙΝΑΙ Η ΠΕΡΙΟΧΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ GAL4 (AD) ΕΝΩ ΤΟ ΥΠΟΛΟΙΠΟ ΜΟΡΙΟ ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΤΑ 330 ΠΕΡΙΠΟΥ ΑΜΙΝΟΞΙΚΑ ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ ΤΟΥ ΚΑΡΒΟΞΥΤΕΛΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1 (Χ1CT).

- **ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-HA106**

ΓΙΑ ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ ΕΠΙΛΕΧΘΗΚΕ ΤΟ ΙΔΙΟ RNA ΠΟΥ ΕΙΧΕ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΕΙ ΩΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΗΣ Χ1 ΜΕ ΤΗΝ *IN VITRO* ΜΕΘΟΔΟ ΣΑΡΩΣΗΣ. ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΟ HA106 (ΣΧΗΜΑ 11.2), ΕΝΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ ΤΟΥ PSTVD, ΜΗΚΟΥΣ 406 ΒΑΣΕΩΝ, ΠΟΥ ΞΕΚΙΝΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΛΗΓΕΙ ΜΕ ΤΟ ΑΝΩ ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ. ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΔΗΛΑΔΗ ΓΙΑ ΕΝΑ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΓΡΑΜΜΙΚΟΥ ΟΛΙΓΟΜΕΡΟΥΣ PSTVD RNA, ΑΠΟ ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΜΑΛΙΣΤΑ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΡΟΚΥΨΕΙ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ PSTVD RNA. Η ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΑΦΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΣΤΕΙ Η ΕΙΔΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ. ΤΟ HA106 ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΕΙ ΤΗ ΜΙΚΡΟΤΕΡΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΜΟΝΑΔΑ ΤΟΥ ΓΡΑΜΜΙΚΟΥ ΟΛΙΓΟΜΕΡΟΥΣ PSTVD RNA ΣΤΟ ΜΕΤΑΒΑΤΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΤΗ ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΤΟΥ ΣΕ ΚΥΚΛΙΚΟ PSTVD RNA. ΣΤΗΝ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ HAIIIMS2-1 ΤΟ PSTVD CDNA ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΟ 3' ΤΟΥ MS2 CDNA. ΑΥΤΗ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-HA106 ΠΟΥ ΣΤΟ 5' ΑΚΡΟ ΤΟΥ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΤΟ MS2 ΚΑΙ ΣΤΟ 3' ΤΟ HA106.



Μετασχηματισμένα στελέχη

ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΕΞΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ L40-COAT, ΜΕ ΙΣΑΡΙΘΜΑ ΖΕΥΓΗ ΠΛΑΣΜΙΔΙΩΝ. ΤΑ ΖΕΥΓΗ ΕΙΝΑΙ ΔΙΑΦΟΡΟΙ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΙ ΤΡΙΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΡΙΩΝ RNA ΥΒΡΙΔΙΩΝ. ΠΕΡΑΝ ΤΟΥ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ AD-X1 ΚΑΙ MS2-HA106 ΠΟΥ ΒΑΣΙΚΑ ΜΑΣ ΕΝΔΙΑΦΕΡΕΙ, ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΩΣ ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ ΜΑΡΤΥΡΕΣ ΤΑ (ΜΗ) ΥΒΡΙΔΙΑ AD ΚΑΙ MS2. ΤΑ ΥΒΡΙΔΙΑ AD-IRP ΚΑΙ MS2-IRE, ΩΣ ΖΕΥΓΟΣ ΕΙΝΑΙ Ο ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ, ΑΦΟΥ ΕΙΝΑΙ ΓΝΩΣΤΟ ΑΠΟ ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΟΤΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ IRP ΚΑΙ ΤΟ IRE RNA ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ (SENGURTA ET AL, 1997), ΕΝΩ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΤΑ AD-X1 ΚΑΙ MS2-HA106 ΧΡΗΣΙΜΕΥΟΥΝ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ.

Αποτελέσματα, παρατηρήσεις και συμπεράσματα

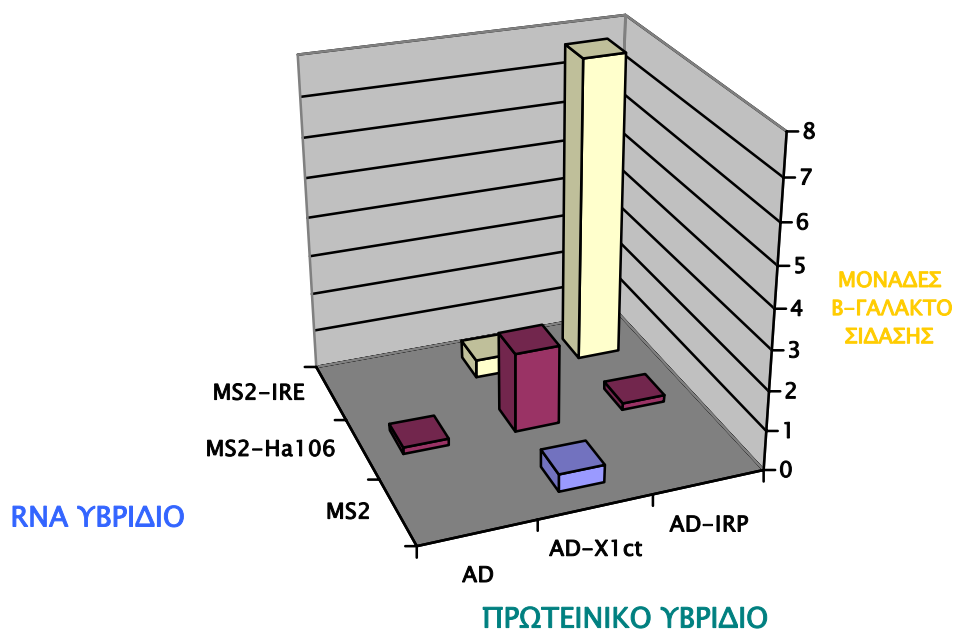
ΣΤΟΝ ΠΙΝΑΚΑ 11.2 ΑΝΑΓΡΑΦΟΝΤΑΙ ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΑΤΙΚΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ ΤΗΣ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΞΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ. ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΕΓΧΡΩΜΟΥ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΕΤΑΙ ΑΝΑ ΚΥΤΤΑΡΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΣΤΗΝ ΜΟΝΑΔΑ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ. ΤΑ ΝΟΥΜΕΡΑ ΑΥΤΑ ΑΝΑΛΟΓΟΥΝ ΣΤΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ LACZ.

ΓΙΝΟΝΤΑΙ ΟΙ ΕΞΕΙΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

- Η ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΤΟ ΥΒΡΙΔΙΟ AD-X1CT ΑΥΞΑΝΕΙ ΠΑΝΩ ΑΠΟ 4 ΦΟΡΕΣ ΟΤΑΝ ΣΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ ΥΠΑΡΧΕΙ ΤΟ HA106, ΕΝΩ ΔΕΝ ΕΠΗΡΕΑΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΟΥ IRE ΣΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ. ΕΠΟΜΕΝΩΣ, Η Χ1 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΟ HA106 RNA ΤΟΥ PSTVD ΚΑΙ ΟΧΙ ΜΕ ΟΠΟΙΟΔΗΠΟΤΕ RNA.
- ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΠΟΥ ΟΦΕΙΛΕΤΑΙ ΣΤΟ ΖΕΥΓΟΣ AD-X1CT / MS2-HA106, Η ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΗΣ Χ1 ΕΙΝΑΙ ΑΝΑΓΚΑΙΑ ΠΡΟΥΠΟΘΕΣΗ, ΑΦΟΥ ΤΟ MS2-HA106 ΥΒΡΙΔΙΟ ΔΕΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙ ΟΥΤΕ ΑΠΟ ΜΟΝΟ ΤΟΥ ΟΥΤΕ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΗΣ IRP ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ.
- ΤΟ ΖΕΥΓΑΡΙ Χ1CT-HA106 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙ 4 ΠΕΡΙΠΟΥ ΦΟΡΕΣ ΛΙΓΟΤΕΡΟ ΑΠΟ ΤΟ ΖΕΥΓΑΡΙ IRP-IRE.

ΠΙΝΑΚΑΣ 11.2

ΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ ΤΗΣ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗΣ ΣΤΑ ΕΞΙ ΣΤΕΛΕΧΗ L40-COAT ΟΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΟΝΤΑΙ ΤΑ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΑ ΖΕΥΓΗ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟΥ ΚΑΙ RNA ΥΒΡΙΔΙΟΥ.



	AD	AD-X1ct	AD-IRP
■ MS2		0.45	
■ MS2-Ha106	0.17	2.02	0.18
■ MS2-IRE		0.45	7.75

ΑΠΟ ΤΑ ΠΑΡΑΠΑΝΩ ΒΓΑΙΝΕΙ ΤΟ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ΟΤΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ X1 ΚΑΙ ΤΟ HA106 RNA ΤΟΥ PSTVD ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ, ΚΑΙ ΟΤΙ Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΙΝΑΙ ΕΙΔΙΚΗ ΓΙΑ ΤΑ ΔΥΟ ΜΟΡΙΑ. ΩΣΤΟΣΟ, ΤΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΥΠΟΔΗΛΩΝΕΙ ΤΗΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ, ΕΙΝΑΙ ΣΧΕΤΙΚΑ ΧΑΜΗΛΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ. ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΜΗ ΜΕΙΝΕΙ

ΑΜΦΙΒΟΛΙΑ ΟΤΙ ΤΟ PSTVD ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ Χ1, ΔΟΚΙΜΑΣΤΗΚΑΝ ΣΤΗ ΣΥΝΕΧΕΙΑ ΔΥΟ ΑΚΟΜΗ PSTVD RNA ΜΟΡΙΑ. ΟΠΩΣ ΚΑΙ Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ HA106, ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΟΥΝ ΤΟ PSTVD, ΧΩΡΙΣ ΟΜΩΣ ΝΑ ΕΧΟΥΝ ΤΗΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ. ΑΝ ΤΟ HA106 ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΜΟΝΑΔΙΚΟ RNA ΤΟΥ PSTVD ΠΟΥ ΠΡΟΣΔΕΝΕΙ Η Χ1, ΤΟΤΕ ΤΗΝ ΕΥΘΥΝΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΘΑ ΕΧΕΙ Η ΕΙΔΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ. ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΥΤΗ ΣΤΗΝ Χ1 ΘΑ ΑΠΟΔΙΔΟΤΑΝ ΚΑΠΟΙΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΣΧΕΤΙΚΗ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ RNA.

11.3 Η Χ1 ΚΑΙ ΔΥΟ ΓΡΑΜΜΙΚΕΣ ΜΟΝΟΜΕΡΕΙΣ ΜΟΡΦΕΣ ΤΟΥ PSTVD ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΔΥΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΩΝ

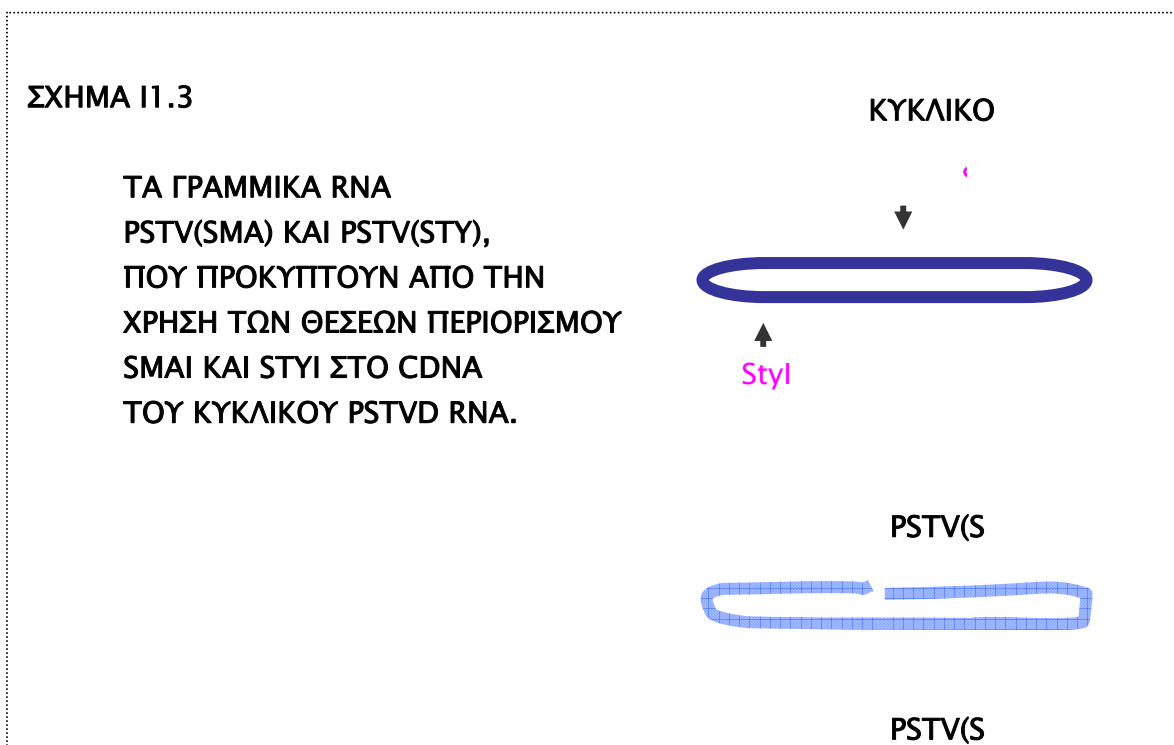
ΤΟ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΤΟΥ PSTVD RNA ΣΤΟ ΜΟΛΥΣΜΕΝΟ ΦΥΤΟ, ΕΙΝΑΙ ΚΥΚΛΙΚΟ. ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΤΟ RNA ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ ΕΙΝΑΙ ΚΑΤ ΑΝΑΓΚΗΝ ΓΡΑΜΜΙΚΟ ΚΑΙ ΜΑΛΙΣΤΑ ΕΝΣΩΜΑΤΩΜΕΝΟ ΣΕ ΕΝΑ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΟ ΜΟΡΙΟ. ΕΙΝΑΙ ΜΑΛΛΟΝ ΑΠΙΘΑΝΟ Η ΓΡΑΜΜΙΚΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΝΑ ΑΠΟΚΤΑ ΣΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΗΣ ΤΗΝ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΚΥΚΛΙΚΟΥ. ΣΤΟ ΣΗΜΕΙΟ ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΔΙΑΚΟΠΤΕΤΑΙ ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΓΡΑΜΜΟΠΟΙΗΘΕΙ ΚΑΙ ΝΑ ΕΝΣΩΜΑΤΩΘΕΙ ΣΤΟ ΥΒΡΙΔΙΟ, ΕΚΕΙ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΠΡΟΦΑΝΩΣ Η ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΟΥ ΥΦΙΣΤΑΤΑΙ ΤΗΝ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΗ ΔΟΜΙΚΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ. ΓΙΑ ΤΟ ΠΕΙΡΑΜΑ ΠΟΥ ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΕΠΙΛΕΧΤΗΚΑΝ ΔΥΟ RNA ΠΟΥ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΟΥΝ ΤΟ ΓΡΑΜΜΙΚΟ ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ PSTVD RNA. ΕΧΟΥΝ ΤΟ ΙΔΙΟ ΜΗΚΟΣ ΜΕ ΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ (359 ΒΑΣΕΙΣ) ΚΑΙ ΤΗΝ ΙΔΙΑ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ, Η ΟΠΟΙΑ ΟΜΩΣ ΑΡΧΙΖΕΙ ΚΑΙ ΤΕΛΕΙΩΝΕΙ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΣΗΜΕΙΟ. ΕΤΣΙ, Η ΔΟΜΙΚΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ ΘΑ ΕΜΦΑΝΙΣΤΕΙ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΣΤΟ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ ΜΟΡΙΑ. ΕΠΟΜΕΝΩΣ, ΣΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΩΝ ΔΥΟ ΑΥΤΩΝ ΓΡΑΜΜΙΚΩΝ RNA ΘΑ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΟΝΤΑΙ ΑΚΕΡΑΙΕΣ ΟΛΕΣ ΟΙ ΔΟΜΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ PSTVD. ΟΙ ΘΕΣΕΙΣ ΓΡΑΜΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΕΠΙΛΕΧΤΗΚΑΝ ΛΑΜΒΑΝΟΝΤΑΣ ΥΠ ΟΨΗΝ ΤΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΚΥΚΛΙΚΟΥ ΜΟΡΙΟΥ, ΕΤΣΙ ΩΣΤΕ Η ΜΙΑ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΣΤΗΝ ΜΕΣΗ ΚΑΙ Η ΑΛΛΗ ΚΟΝΤΑ ΣΤΟ ΕΝΑ ΑΚΡΟ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ.

- **ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-PSTV(SMA)**

ΣΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ RNA ΤΟΥ PSTVD, ΤΟ ΣΗΜΕΙΟ ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΕΙ Η ΘΕΣΗ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ SMAI ΤΟΥ PSTVD CDNA ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΟΥ ΑΝΩ ΚΛΑΔΟΥ ΤΗΣ ΔΙΠΛΗΣ ΕΛΙΚΑΣ (ΣΧΗΜΑ 11.3). ΕΝΑ CDNA ΟΛΙΓΟΜΕΡΩΝ ΤΟΥ PSTVD ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΕΙ ΜΕ ΤΟ ΕΝΖΥΜΟ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ SMAI, ΔΙΝΕΙ ΤΟ CDNA ΤΟΥ ΜΟΝΟΜΕΡΟΥΣ PSTVD. ΑΥΤΟ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΕΙ ΣΕ ΕΝΑ ΓΡΑΜΜΙΚΟ ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ PSTVD RNA. ΤΟ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ ΘΑ ΔΙΑΤΗΡΕΙ ΤΗΝ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ, ΜΕ ΕΞΑΙΡΕΣΗ ΤΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΟΥ ΑΝΩ ΤΜΗΜΑΤΟΣ, ΟΠΟΥ ΤΟ ΜΟΡΙΟ ΔΙΑΚΟΠΤΕΤΑΙ ΕΚΕΙ ΠΟΥ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΕΙ Η SMAI ΘΕΣΗ. ΤΟ SMAI CDNA ΚΟΜΜΑΤΙ ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΟΝ ΦΟΡΕΑ PIII/MS2-1, ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΕΙ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ SMAIII/MS2-1. Η ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΕΝΑ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ, ΤΟ MS2-PSTV(SMA), ΠΟΥ ΘΑ ΞΕΚΙΝΑ ΜΕ ΤΟ MS2 ΚΑΙ ΘΑ ΣΥΝΕΧΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΙΣ 359 ΒΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΜΟΝΟΜΕΡΟΥΣ PSTVD.

- **ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-PSTV(STY)**

ΠΑΡΟΜΟΙΟ ΜΕ ΤΟ SMAIII/MS2-1 ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ STYIII/MS2-1, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-PSTV(STY). ΕΔΩ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΩΣ ΕΝΘΕΜΑ ΤΟ STYI ΚΟΜΜΑΤΙ ΤΟΥ CDNA ΤΟΥ PSTVD. Η ΘΕΣΗ STYI ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΟΝ ΚΑΤΩ ΑΡΙΣΤΕΡΟ ΚΛΑΔΟ ΤΟΥ ΚΥΚΛΙΚΟΥ PSTVD (ΣΧΗΜΑ 11.3).





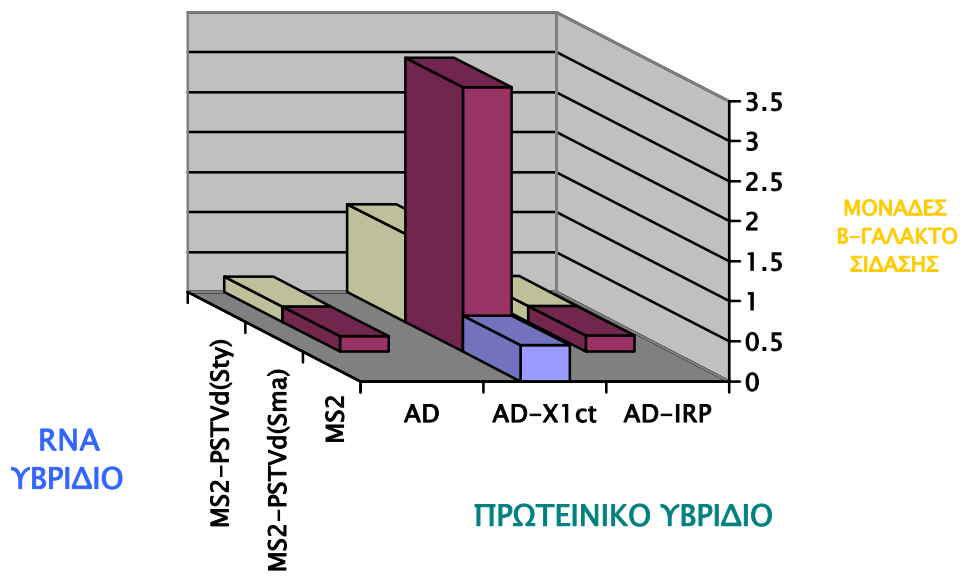
Αποτελέσματα, παρατηρήσεις και συμπεράσματα

ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ ΥΒΡΙΔΙΑ ΤΟΥ ΜΟΝΟΜΕΡΟΥΣ PSTVD ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ, ΟΠΩΣ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΩΣ, ΜΕ ΤΟΥΣ ΑΡΝΗΤΙΚΟΥΣ ΜΑΡΤΥΡΕΣ ΚΑΙ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑΣ. ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ ΠΑΡΕΜΕΙΝΕ ΤΟ AD-X1CT, ΑΦΟΥ ΕΙΧΕ ΔΩΣΕΙ ΕΠΙΤΥΧΗΜΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.

ΣΤΟΝ ΠΙΝΑΚΑ 11.3 ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΝΤΑΙ ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ, ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΠΙΤΡΕΠΟΥΝ ΤΙΣ ΕΞΕΙΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

ΠΙΝΑΚΑΣ 11.3

ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ ΤΗΣ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗΣ ΣΤΑ ΣΤΕΛΕΧΗ L40-COAT ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΟΥΝ ΤΑ ΖΕΥΓΗ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟΥ ΚΑΙ RNA-ΥΒΡΙΔΙΟΥ.



	AD	AD-X1ct	AD-IRP
■ MS2		0.45	
■ MS2-PSTVd(Sma)	0.19	3.3	0.2
■ MS2-PSTVd(Sty)	0.19	1.1	0.2

- Ο ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟΥ ΥΒΡΙΔΙΟΥ AD-X1CT ΜΕ ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-PSTV(SMA) ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙ ΤΗΝ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗ 6 ΦΟΡΕΣ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΑΠΟ ΟΤΙ ΜΕ ΤΟ MS2.

- Ο ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟΥ ΥΒΡΙΔΙΟΥ AD-X1CT ΜΕ ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-PSTV(STY) ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙ ΤΗΝ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗ 2 ΦΟΡΕΣ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΑΠΟ ΟΤΙ ΜΕ ΤΟ MS2.
- ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΑ ΔΕΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙ ΤΟ LACZ ΕΙΤΕ ΟΤΑΝ ΣΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ Η Χ1 (AD) ΕΙΤΕ ΟΤΑΝ Η Χ1 ΕΧΕΙ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΘΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ IRP (AD-IRP).

ΤΑ ΑΜΕΣΟ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ ΕΙΝΑΙ ΟΤΙ ΟΙ ΔΥΟ ΓΡΑΜΜΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΤΟΥ PSTVD ΠΟΥ ΕΞΕΤΑΣΤΗΚΑΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΕΙΔΙΚΑ ΜΕ ΤΗΝ Χ1.

11.4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ 1

ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΔΥΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΔΕΙΧΝΟΥΝ ΟΤΙ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΜΙΑ ΕΙΔΙΚΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1 ΚΑΙ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ PSTVD. ΠΑΡΑΤΗΡΟΥΝΤΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΠΟΥ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΠΟΛΥ ΥΨΗΛΑ, ΩΣΤΟΣΟ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ, ΜΕ ΚΑΠΟΙΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ, ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΤΡΕΙΣ ΜΟΡΦΕΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΠΟΥ ΔΟΚΙΜΑΣΤΗΚΑΝ. ΔΕΝ ΜΕΝΟΥΝ ΠΟΛΛΕΣ ΑΜΦΙΒΟΛΙΕΣ ΟΤΙ Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ, ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΑΡΧΙΖΕΙ ΝΑ ΜΑΣ ΑΠΑΣΧΟΛΕΙ ΤΟ ΠΩΣ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΤΟ PSTVD ΚΑΙ ΓΙΑΤΙ.

ΠΕΡΑΝ ΤΟΥ HA106 RNA, ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΤΑΙ Η ΕΙΔΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ, Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΠΡΟΣΔΕΝΕΙ ΚΑΙ ΤΙΣ ΑΛΛΕΣ ΔΥΟ ΜΟΡΦΕΣ ΤΟΥ ΜΟΝΟΜΕΡΟΥΣ PSTVD, ΟΠΟΥ Ο ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΑΥΤΟΣ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΣ. ΕΠΟΜΕΝΩΣ, Η ΕΙΔΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΔΕΝ ΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ, ΟΠΟΤΕ Η ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ Χ1 ΔΕΝ ΑΝΑΜΕΝΕΤΑΙ ΝΑ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ ΓΡΑΜΜΙΚΟΥ ΟΛΙΓΟΜΕΡΟΥΣ PSTVD RNA ΣΕ ΚΥΚΛΙΚΟ.

ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΜΟΡΦΩΝ ΤΟΥ PSTVD RNA ΠΟΥ ΜΕΛΕΤΗΘΗΚΑΝ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΑΝΑΠΑΡΑΧΘΗΚΕ, ΕΣΤΩ ΚΑΙ ΑΠΟΣΠΑΣΜΑΤΙΚΑ, Η ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΚΥΚΛΙΚΟΥ PSTVD RNA, Η ΟΠΟΙΑ ΔΕΝ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΜΕΛΕΤΗΘΕΙ ΑΥΤΗ ΚΑΘ ΑΥΤΗ ΣΕ ΑΥΤΟ ΤΟ

ΣΥΣΤΗΜΑ. ΣΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΟΝΤΑΙ ΟΛΕΣ ΟΙ ΔΟΜΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΟΥ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΟΥ ΜΟΡΙΟΥ. ΜΕ ΤΟΝ ΤΡΟΠΟ ΑΥΤΟ ΕΞΑΣΦΑΛΙΖΕΤΑΙ Η ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΟΠΟΥ ΚΑΙ ΝΑ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΣΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ RNA, ΔΙΟΤΙ ΕΑΝ ΚΑΠΟΙΟ ΑΠΟ ΤΑ ΤΡΙΑ ΓΡΑΜΜΙΚΑ RNA ΔΕΝ ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΣΤΗΝ Χ1 ΛΟΓΩ ΔΟΜΙΚΗΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΗΣ ΣΤΗΝ ΚΡΙΣΙΜΗ ΠΕΡΙΟΧΗ, Η ΠΡΟΣΔΕΣΗ ΘΑ ΕΙΝΑΙ ΕΠΙΤΥΧΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΑΛΛΑ RNA ΟΠΟΥ Η ΕΝ ΛΟΓΩ ΠΕΡΙΟΧΗ ΕΙΝΑΙ ΑΝΕΠΑΦΗ. ΤΟ ΓΕΓΟΝΟΣ ΟΤΙ ΤΕΛΙΚΑ ΚΑΙ ΤΑ ΤΡΙΑ PSTVD RNA ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΗΝ Χ1, ΛΙΓΟΤΕΡΟ Η ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ, ΕΓΕΙΡΕΙ ΤΟ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΟ ΝΑ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Η ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΑΤΕΛΟΥΣ ΔΙΠΛΗΣ RNA ΕΛΙΚΑΣ ΔΗΛ. ΟΠΟΙΟΔΗΠΟΤΕ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΔΙΑΤΗΡΕΙ ΤΟ ΣΧΗΜΑ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ. ΕΚΤΟΣ ΕΑΝ, Η ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΟΥ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΤΥΧΑΙΝΕΙ ΝΑ ΠΑΡΑΜΕΝΕΙ ΑΝΕΠΑΦΗ ΚΑΙ ΣΤΑ ΤΡΙΑ PSTVD RNA ΠΟΥ ΔΟΚΙΜΑΣΤΗΚΑΝ...

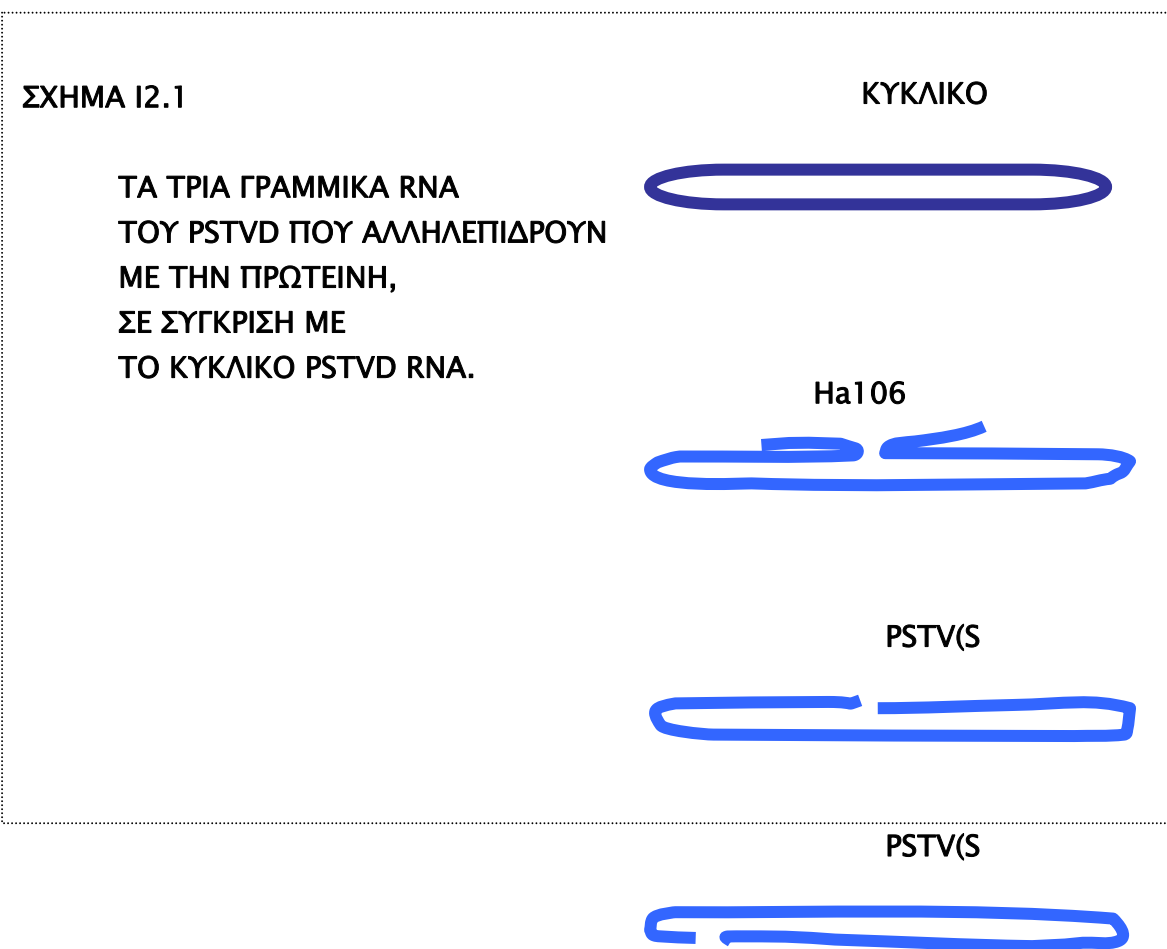
ΠΡΩΤΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Εντοπισμός της θέσης προσδεσης της πρωτεΐνης X1
στα ιοειδή PSTVd και HSVd

12.1 ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΤΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ 2

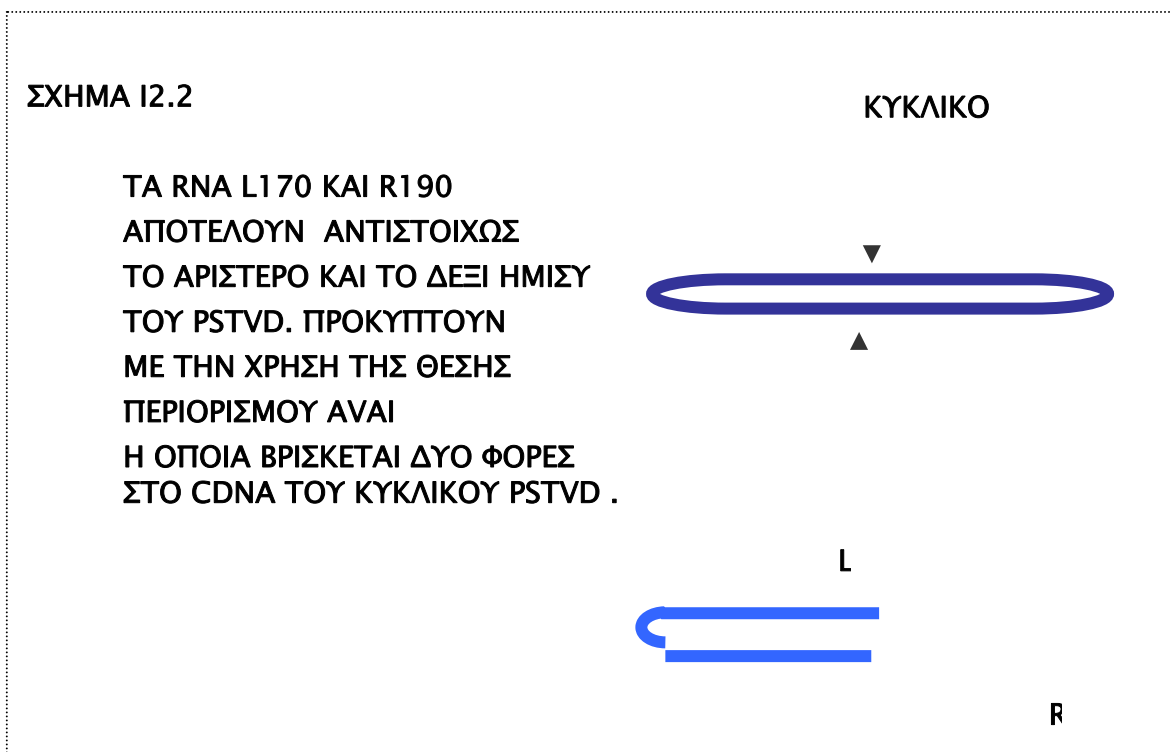
ΣΤΟ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΙΑΠΙΣΤΩΘΗΚΕ ΟΤΙ ΚΑΙ ΤΑ ΤΡΙΑ RNA ΤΟΥ PSTVD ΠΟΥ ΔΟΚΙΜΑΣΤΗΚΑΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ. ΟΠΩΣ ΚΑΙ ΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ PSTVD RNA, ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΥΝ ΜΙΑ ΑΤΕΛΗ ΔΙΠΛΗ RNA ΕΛΙΚΑ Η ΟΠΟΙΑ ΔΙΝΕΙ ΣΤΟ ΜΟΡΙΟ ΤΟ ΣΧΗΜΑ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ. ΟΧΙ ΟΜΩΣ ΣΕ ΟΛΟ ΤΟ ΜΗΚΟΣ ΤΟΥΣ. ΣΤΟ ΗΑ106 ΚΑΙ ΣΤΟ SMA Η ΕΛΙΚΑ ΔΙΑΤΑΡΑΣΣΕΤΑΙ ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ, ΕΝΩ ΣΤΟ STY ΣΤΟ ΑΡΙΣΤΕΡΟ ΑΚΡΟ. ΩΣΤΟΣΟ, ΚΑΙ ΣΤΑ ΤΡΙΑ ΓΡΑΜΜΙΚΑ RNA ΠΟΥ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 Η ΔΕΞΙΑ ΠΛΕΥΡΑ ΤΟΥΣ ΔΙΑΤΗΡΕΙ ΤΗΝ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΟΠΩΣ ΚΑΙ ΣΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ PSTVD (ΣΧΗΜΑ 12.1).



ΑΝΑΖΗΤΗΘΗΚΕ ΤΟ ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ ΠΟΥ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ, «ΤΕΜΑΧΙΖΟΝΤΑΣ» ΤΗΝ, ΥΠΟ ΤΗΝ ΠΑΡΑΔΟΧΗ ΟΤΙ ΤΑ ΤΜΗΜΑΤΑ ΕΙΝΑΙ ΔΟΜΙΚΑ ΑΥΤΟΝΟΜΑ ΩΣΤΕ ΝΑ ΔΙΑΤΗΡΟΥΝ ΤΗΝ ΙΔΙΑ ΔΟΜΗ ΟΠΩΣ ΟΤΑΝ ΕΙΝΑΙ ΜΕΡΟΣ ΤΟΥ ΠΛΗΡΟΥΣ ΜΟΡΙΟΥ. Ο ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΤΕΜΑΧΙΩΝ ΜΕ ΤΗΝ Χ1 ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΜΕ ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΟΠΩΣ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΩΣ ΣΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.

12.2 ΤΟ ΔΕΞΙ ΚΑΙ ΤΟ ΑΡΙΣΤΕΡΟ ΗΜΙΣΥ ΤΟΥ PSTVD

Η ΡΑΒΔΟΣ «ΤΕΜΑΧΙΣΤΗΚΕ» ΣΤΗ ΜΕΣΗ, ΕΤΣΙ ΩΣΤΕ ΤΟ ΔΕΞΙ ΤΗΣ ΗΜΙΣΥ ΝΑ ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΕΙ ΑΠΟ ΤΟ ΑΡΙΣΤΕΡΟ. ΑΥΤΟ ΕΓΙΝΕ ΑΞΙΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΗΣ ΘΕΣΗΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ AVAI ΣΤΟ ΜΕΣΟΝ ΤΟΥ ΑΝΩ ΜΕΡΟΥΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΚΑΤΩ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΕΛΙΚΑΣ. ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΝΖΥΜΑΤΙΚΗ ΠΕΥΗ ΤΟΥ PSTVD CDNA ΜΕ ΤΟ ΕΝΖΥΜΟ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ AVAI ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΔΥΟ ΤΜΗΜΑΤΑ 0,17 ΚΑΙ 0,19 ΚΒΡ. ΤΟ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΕΙ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ ΣΤΟ ΑΡΙΣΤΕΡΟ (L170) ΚΑΙ ΣΤΟ ΔΕΞΙ (R190) ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ ΑΤΕΛΟΥΣ ΔΙΠΛΗΣ ΕΛΙΚΑΣ ΤΟΥ PSTVD (ΣΧΗΜΑ 12.2).



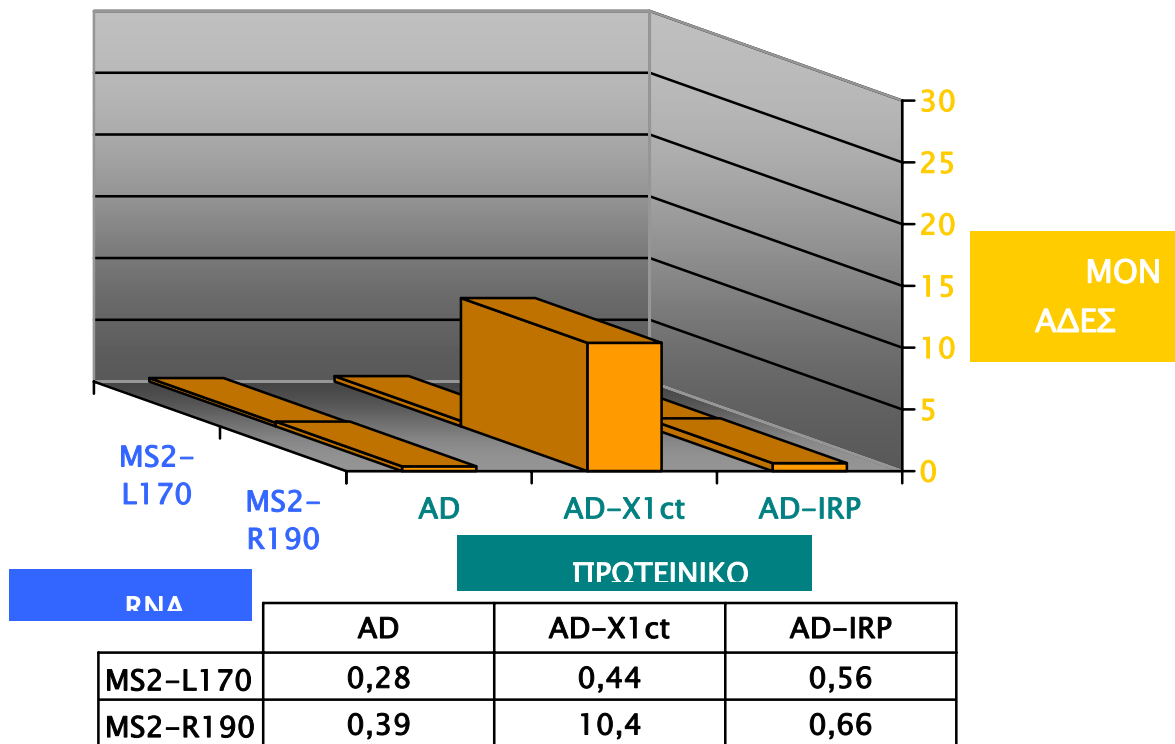
ΤΟ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΤΗΣ ΠΕΨΗΣ ΤΟΥ PSTVD CDNA ΜΕ ΤΟ ΕΝΖΥΜΟ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΑΙ ΕΝΤΕΘΗΚΕ ΣΤΟΝ ΦΟΡΕΑ PIII/MS2-1. ΜΕ ΑΥΤΟ ΤΟΝ ΤΡΟΠΟ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ ΤΑ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑ L170IIIMS2-1 ΚΑΙ R190IIIMS2-1. ΑΠΟ ΑΥΤΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟΝΤΑΙ ΜΕΣΑ ΣΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ L40-COAT ΤΑ ΥΒΡΙΔΙΑ MS2-L170 ΚΑΙ MS2-R190 ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ. ΤΟ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΤΟ ΗΜΙΣΥ ΤΗΣ ΑΤΕΛΟΥΣ ΔΙΠΛΗΣ ΕΛΙΚΑΣ ΠΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ PSTVD. ΤΟ ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-L170 ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΤΟ ΑΡΙΣΤΕΡΟ ΤΜΗΜΑ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 170 ΒΑΣΕΩΝ ΕΝΩ ΣΤΟ MS2-R190 ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΟΙ ΥΠΟΛΟΙΠΕΣ 190 ΒΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΔΗΛ. ΤΟ ΔΕΞΙ ΜΕΡΟΣ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ.

ΤΑ ΔΥΟ ΥΒΡΙΔΙΑ ΔΟΚΙΜΑΣΤΗΚΑΝ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥΣ ΝΑ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1, ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ. ΓΙΑ ΤΟΝ ΣΚΟΠΟ ΑΥΤΟ, ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΠΑΛΙ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ AD-Χ1CT, ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ ΤΑ AD ΚΑΙ AD-IRP ΩΣ ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ ΜΑΡΤΥΡΕΣ.

ΣΤΟΝ ΠΙΝΑΚΑ 12.2 ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΟΤΙ, ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ AD-Χ1CT, ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-R190 ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ 20 ΦΟΡΕΣ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ LACZ ΑΠΟ ΟΤΙ ΤΟ MS2-L170. ΣΗΜΕΙΩΤΕΟΝ ΟΤΙ Η ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΑΥΤΗ ΔΕΝ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΟΤΑΝ ΤΟ MS2-R190 ΣΥΝΔΥΑΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΟ AD Η ΜΕ ΤΟ AD-IRP. ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΜΟΝΟ ΤΟ ΔΕΞΙ ΗΜΙΣΥ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ ΤΟΥ PSTVD ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1, ΚΑΙ ΜΑΛΙΣΤΑ ΟΧΙ ΜΕ ΟΠΟΑΔΗΠΟΤΕ ΠΡΩΤΕΙΝΗ.

ΠΙΝΑΚΑΣ 12.2

ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΓΙΑ ΤΟ ΑΡΙΣΤΕΡΟ ΚΑΙ ΤΟ ΔΕΞΙ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ PSTVD.



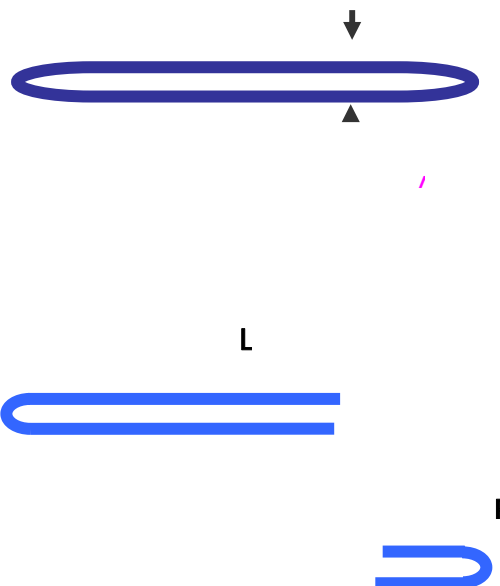
12.3 Η ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ PSTVD

ΑΦΟΥ ΤΟ ΑΡΙΣΤΕΡΟ ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ ΔΕΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ Χ1, Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΔΕΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΙ ΓΕΝΙΚΑ ΤΗΝ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΑΤΕΛΟΥΣ ΔΙΠΛΗΣ RNA ΕΛΙΚΑΣ ΑΛΛΑ ΜΑΛΛΟΝ ΕΧΕΙ ΜΙΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΘΕΣΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΠΑΝΩ ΣΤΟ PSTVD, ΚΑΠΟΥ ΣΤΟ ΔΕΞΙ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ. ΤΟ RNA R190 ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΕΝΑ ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ, ΤΗΝ ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ. ΜΕΝΕΙ ΝΑ ΕΝΤΟΠΙΣΤΕΙ ΑΝ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΚΑΠΟΙΑ ΑΠΟ ΑΥΤΕΣ ΤΙΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΚΑΙ ΑΝ ΝΑΙ ΜΕ ΠΟΙΑ.

ΣΧΗΜΑ 12.3

ΤΑ RNA L280 ΚΑΙ R80,
ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΑΠΟ

ΚΥΚΛΙΚΟ



ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΕΑΓΙ ΚΑΙ ΑΝΑΙΙ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΑΠΟΜΟΝΩΘΕΙ Η ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ (ΣΧΗΜΑ 12.3). Η ΘΕΣΗ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ ΕΑΓΙ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΤΟΠΟΘΕΣΙΑ 144 ΕΝΩ Η ΑΝΑΙΙ ΣΤΗΝ 220. ΟΤΑΝ ΤΟ ΡSΤVΔ CDNA ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΕΙ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ ΑΥΤΑ ΕΝΖΥΜΑ, ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΔΥΟ ΤΜΗΜΑΤΑ, ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,08 ΚΑΙ 0,28 ΚΒΡ, ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟΥΝ ΣΤΑ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ RNA. ΤΟ ΜΙΚΡΟΤΕΡΟ, ΜΕ ΜΕΓΕΘΟΣ ΠΕΡΙΠΟΥ 80 ΒΑΣΕΙΣ ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΤΗΝ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ ΡSΤVΔ (R80) ΚΑΙ ΤΟ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΟ, ΠΕΡΙΠΟΥ 280 ΒΑΣΕΙΣ, ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΥΠΟΛΟΙΠΟ ΜΟΡΙΟ (L280). ΤΟ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ ΤΜΗΜΑΤΑ ΤΟΥ CDNA ΤΟΥ ΡSΤVΔ ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΕΨΗ ΤΟΥ ΜΕ ΤΑ ΕΝΖΥΜΑ ΕΑΓΙ ΚΑΙ ΑΝΑΙΙ ΕΝΤΕΘΗΚΑΝ ΣΤΟΝ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟ ΦΟΡΕΑ ΡIII/MS2-1. ΕΤΣΙ ΕΓΙΝΑΝ ΟΙ ΔΥΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΕΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ ΠΟΥ ΠΕΡΙΓΡΑΦΟΝΤΑΙ ΠΑΡΑΚΑΤΩ.

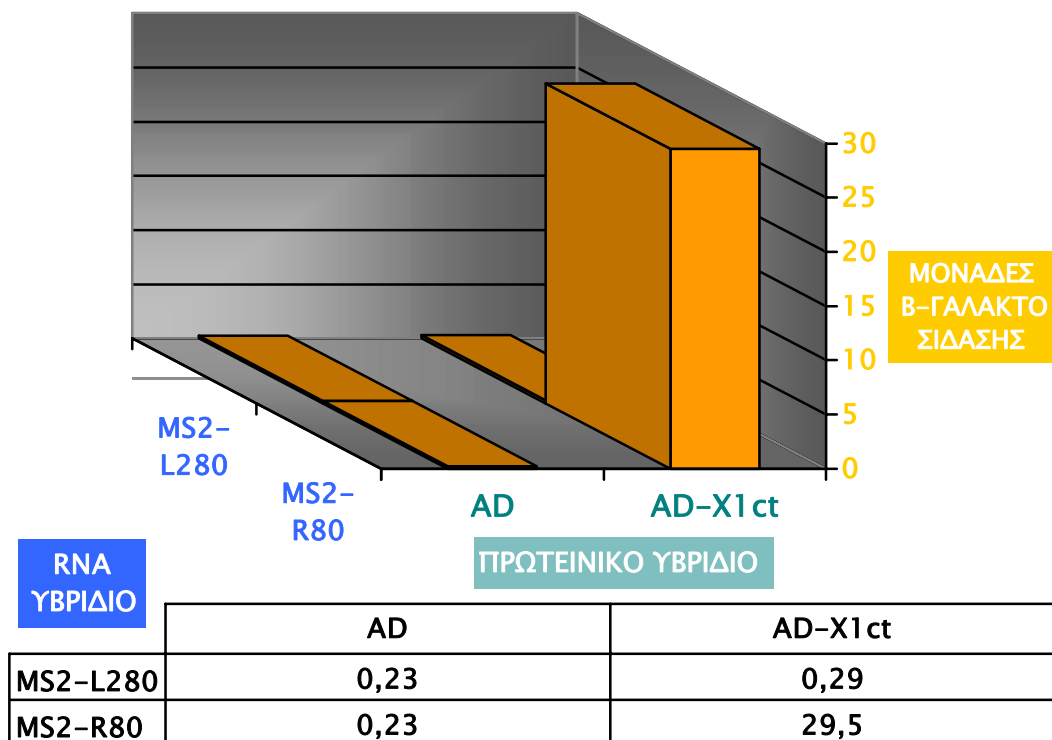
ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ R80IIIIMS2-1 ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-R80, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΤΗΝ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΜΕΓΕΘΟΣ ΠΕΡΙΠΟΥ 80 ΒΑΣΕΙΣ. ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ L280IIIIMS2-1

ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-L280. ΕΔΩ ΥΠΑΡΧΕΙ ΤΟ ΥΠΟΛΟΙΠΟ ΜΟΡΙΟ, ΔΗΛ. ΕΝΑ ΑΡΙΣΤΕΡΟ ΤΜΗΜΑ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 280 ΒΑΣΕΩΝ.

ΟΠΩΣ ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΣΤΟΝ ΠΙΝΑΚΑ 12.3, ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-R80 ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ AD-X1CT ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΕΙ ΤΗΝ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗ ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ 100 ΦΟΡΕΣ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΑΠΟ ΟΤΙ Ο ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ MS2 ΚΑΙ AD . Η ΑΥΞΗΣΗ ΔΕΝ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΟΤΑΝ ΤΟ MS2-R80 ΣΥΝΔΥΑΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΟ AD, ΔΗΛΑΔΗ Η Χ1 ΕΙΝΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΗ. ΕΠΟΜΕΝΩΣ, ΤΑ ΥΨΗΛΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗΣ ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1 ΜΕ ΤΗΝ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ PSTVD. ΕΙΝΑΙ Η ΜΟΝΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΠΟΥ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ, ΑΦΟΥ Ο ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ MS2-L280 ΚΑΙ AD-X1CT ΔΙΑΤΗΡΕΙ ΤΑ ΒΑΣΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ.

ΠΙΝΑΚΑΣ 12.3

ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ PSTVD.



ΤΟ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ΕΙΝΑΙ ΟΤΙ Η ΘΕΣΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1 ΣΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ PSTVD ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΗ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ, Η ΟΠΟΙΑ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ RNA R80. ΣΕ ΑΥΤΟ ΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ ΟΜΩΣ, ΔΕΝ ΕΙΜΑΣΤΕ ΣΕ ΘΕΣΗ ΝΑ ΓΝΩΡΙΖΟΥΜΕ ΣΕ ΠΟΙΑ ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΕΝ ΛΟΓΩ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ. ΜΕΝΕΙ ΛΟΙΠΟΝ ΝΑ ΑΝΑΖΗΤΗΘΟΥΝ ΤΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΡΩΤΟΤΑΓΟΥΣ Η/ΚΑΙ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΟΥΣ ΔΟΜΗΣ ΤΟΥ R80 ΠΟΥ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ Χ1. ΑΝ Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΕΙΝΑΙ ΚΡΙΣΙΜΗ ΓΙΑ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ, ΤΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΥΤΑ ΘΑ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΔΙΑΤΗΡΟΥΝΤΑΙ ΟΤΑΝ ΤΑ ΓΕΙΤΟΝΙΚΑ ΤΟΥΣ ΕΠΙΤΡΕΠΕΤΑΙ ΝΑ ΜΕΤΑΒΛΗΘΟΥΝ. ΩΣΤΟΣΟ Η ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ, ΣΕ ΟΛΟ ΤΟ ΜΗΚΟΣ ΤΗΣ, ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΙ ΕΛΑΧΙΣΤΗ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΤΟΥ PSTVD. ΔΕΝ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΟΜΩΣ ΤΟ ΙΔΙΟ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟ PSTVD ΚΑΙ ΚΑΠΟΙΑ ΑΛΛΑ ΙΟΕΙΔΗ...

12.4 ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ HSVD ΚΑΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1

Η *IN VITRO* ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΕΧΕΙ ΔΕΙΞΕΙ ΟΤΙ ΕΚΤΟΣ ΑΠΟ ΤΟ PSTVD ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΕΠΙΣΗΣ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ HSVD Η ΗΟΡ STUNT VIROID (MARTINEZ Ε, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ). ΑΝΗΚΕΙ ΚΑΙ ΑΥΤΟ ΣΤΗΝ ΟΜΑΔΑ ΤΟΥ PSTVD ΑΦΟΥ ΕΧΕΙ ΟΜΟΙΑ ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ, ΟΜΩΣ ΤΟ ΥΠΟΛΟΙΠΟ ΜΟΡΙΟ ΕΙΝΑΙ ΠΟΛΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ. ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ, ΤΟ HSVD ΕΙΝΑΙ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΠΛΕΟΝ ΑΠΟΜΑΚΡΥΣΜΕΝΑ ΑΠΟ ΤΟ PSTVD.

ΑΡΧΙΚΑ ΔΙΕΡΕΥΝΗΘΗΚΕ ΤΟ ΑΝ Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ HSVD ΜΕ ΤΗΝ Χ1 ΕΙΝΑΙ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΙΜΗ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ. ΓΙΑ ΤΟΝ ΛΟΓΟ ΑΥΤΟ, ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ HSVIIIMS2-1, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-HSV(SMA). ΤΟ ΥΒΡΙΔΙΟ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΕΝΑ ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ, ΤΟ HSVD(SMA). ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΕΝΑ RNA ΠΟΥ ΞΕΚΙΝΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΛΗΓΕΙ ΣΤΟ ΜΕΣΟΝ ΤΟΥ ΑΝΩ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ. ΕΚΕΙ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ Η ΘΕΣΗ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ SMAI ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΟΥ ΕΝΘΕΜΑΤΟΣ ΤΗΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗΣ (ΣΧΗΜΑ 12.4).

ΣΧΗΜΑ 12.4

ΤΟ ΓΡΑΜΜΙΚΟ RNA

HSV(SMA) ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΕΙ

ΚΥΚΛΙΚΟ



HSV(S)



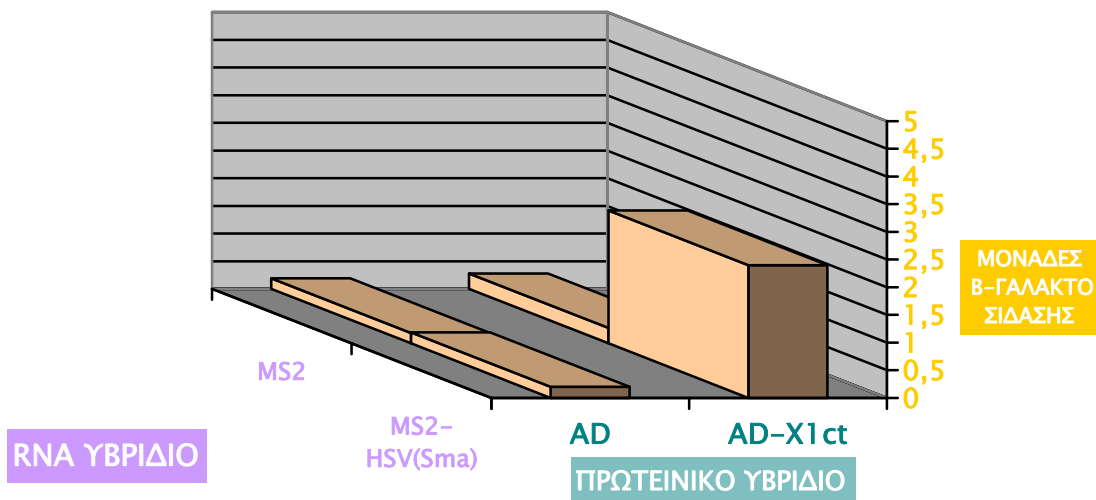
ΣΤΟ ΙΔΙΟ ΣΗΜΕΙΟ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΚΑΙ ΣΤΟ PSTVD Η ΘΕΣΗ SMAI. ΑΥΤΟ ΔΕΝ ΞΑΦΝΙΑΖΕΙ ΔΕΔΟΜΕΝΟΥ ΟΤΙ Η ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΕΙΝΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΤΟ ΚΑΤΑΤΑΚΤΗΡΙΟ ΚΡΙΤΗΡΙΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΜΑΔΑ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΤΟΥ PSTVD. ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ, ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΤΡΙΑ RNA ΜΕ ΟΛΟΚΛΗΡΟ ΤΟ PSTVD ΠΟΥ ΔΟΚΙΜΑΣΤΗΚΑΝ, ΤΟ PSTV(SMA) ΕΔΙΝΕ ΤΑ ΥΨΗΛΟΤΕΡΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗΣ (ΒΛ. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1). ΓΙΑ ΑΥΤΟΝ ΤΟΝ ΛΟΓΟ, ΠΡΟΤΙΜΗΘΗΚΕ ΤΟ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΟ RNA, ΤΟ HSV(SMA), ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΟΚΙΜΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ HSV(D) ΜΕ ΤΗΝ Χ1,

Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ HSV(D) ΜΕ ΤΗΝ Χ1 ΕΙΝΑΙ ΕΜΦΑΝΗΣ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ, ΑΦΟΥ ΤΟ RNA ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-HSV(SMA) ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ AD-Χ1CT ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΟΥΝ ΤΗΝ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗ ΚΑΤΑ 10 ΠΕΡΙΠΟΥ ΦΟΡΕΣ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΑΠΟ ΟΤΙ ΟΙ ΥΠΟΛΟΙΠΟΙ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΙ (ΠΙΝΑΚΑΣ 12.4).

ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ HSV(D) ΛΟΙΠΟΝ, ΟΠΩΣ ΚΑΙ ΤΟ PSTVD, ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1. Η ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΩΝ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΩΝ ΕΙΝΑΙ Η ΜΟΝΗ ΣΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΥΠΑΡΧΕΙ ΕΚΤΕΤΑΜΕΝΗ ΕΜΦΑΝΗΣ ΟΜΟΙΟΤΗΤΑ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ, ΑΦΟΥ ΟΜΩΣ Η ΘΕΣΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΗΣ Χ1 ΣΤΟ PSTVD ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΕΚΤΟΣ ΤΗΣ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ, ΤΟ ΙΔΙΟ ΑΝΑΜΕΝΕΤΑΙ ΚΑΙ ΓΙΑ ΤΟ HSV(D).

ΠΙΝΑΚΑΣ 12.4

ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΓΙΑ ΤΟ HSV(D) ΚΑΙ ΤΗΝ Χ1.



	AD	AD-X1 ct
MS2	0,19	0,28
MS2-HSV(Sma)	0,2	2,4

12.5 ΕΝΑ ΔΕΞΙ ΚΑΙ ΕΝΑ ΑΡΙΣΤΕΡΟ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ HSVd

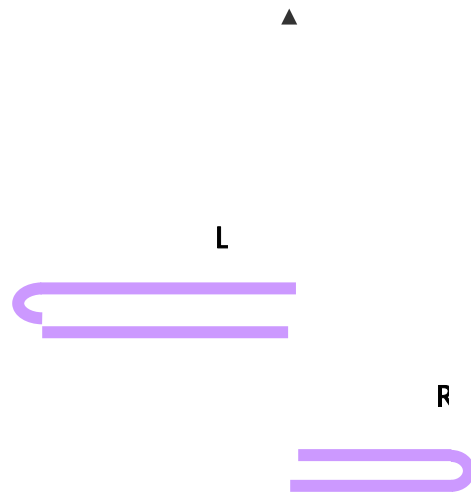
Η ΘΕΣΗ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ EAR1 ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΟ CDNA ΤΟΥ HSVd ΣΤΑ ΣΗΜΕΙΑ ΠΟΥ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΟΥΝ ΣΤΙΣ ΘΕΣΕΙΣ 95 ΚΑΙ 205 ΤΟΥ ΚΥΚΛΙΚΟΥ RNA. ΤΑ ΔΥΟ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΤΗΣ ΠΕΨΗΣ ΕΧΟΥΝ ΜΕΓΕΘΗ 0,19 ΚΑΙ 0,11 ΚΒΡ. ΤΟ RNA ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΕΙ ΑΠΟ ΤΟ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΟ ΠΡΟΙΟΝ ΕΙΝΑΙ ΕΝΑ ΑΡΙΣΤΕΡΟ ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ (L190) ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ. ΤΟ ΥΠΟΛΟΙΠΟ, ΔΗΛ. ΤΟ ΔΕΞΙ ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ ΑΝΕΥ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ, ΕΙΝΑΙ ΤΟ R110 (ΣΧΗΜΑ 12.5).

ΣΧΗΜΑ 12.5

ΤΑ RNA L190 ΚΑΙ R110 ΑΠΟΤΕΛΟΥΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ ΕΝΑ ΑΡΙΣΤΕΡΟ ΚΑΙ ΕΝΑ ΔΕΞΙ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ HSVd. ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΜΕ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΘΕΣΕΩΝ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ EAR1 ΤΟΥ HSVd CDNA .

ΚΥΚΛΙΚΟ

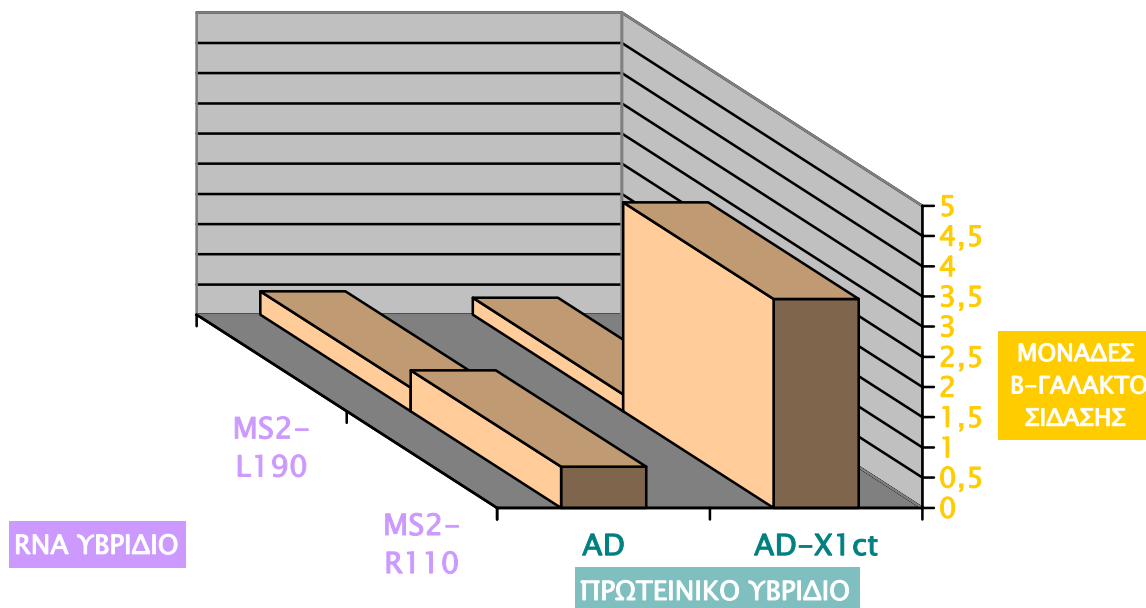




ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ ΤΑ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑ HSV190IIIMS2-1 ΚΑΙ HSV170IIIMS2-1, ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΚΦΡΑΖΟΥΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ ΤΑ RNA ΥΒΡΙΔΙΑ MS2-L190 ΚΑΙ MS2-R110. ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ, ΤΟ R110 ΚΑΙ ΟΧΙ ΤΟ L190, ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ Χ1 (ΠΙΝΑΚΑΣ 12.5), ΔΗΛ. Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΔΕΞΙΑ ΠΛΕΥΡΑ ΤΟΥ HSVD.

ΠΙΝΑΚΑΣ 12.5

ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΓΙΑ ΤΟ ΑΡΙΣΤΕΡΟ ΚΑΙ ΤΟ ΔΕΞΙ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ HSVD ΜΕ ΤΗΝ Χ1.



	AD	AD-X1ct
MS2-L190	0,39	0,28
MS2-R110	0,68	3,46

12.6 ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΕΙΣ ΣΤΑ RNA R80 ΚΑΙ R110

Η ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΤΗΣ ΘΕΣΗΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1 ΚΑΤΕΛΗΞΕ ΚΑΙ ΓΙΑ ΤΑ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΗ, ΤΟ PSTVD ΚΑΙ ΤΟ HSVD, ΣΤΗΝ ΔΕΞΙΑ ΠΛΕΥΡΑ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ. Η Χ1 ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΣΤΟ R80 ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ PSTVD ΚΑΙ ΣΤΟ R110 ΤΟΥ HSVD. ΤΑ ΔΥΟ ΑΥΤΑ RNA ΠΡΟΣΦΕΡΟΥΝ ΕΝΑ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗΣ ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΟΝ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟ ΚΟΙΝΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ, ΥΠΟΨΗΦΙΩΝ ΓΙΑ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ.

ΟΤΑΝ ΟΙ ΔΥΟ ΓΡΑΜΜΙΚΕΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ ΤΩΝ R80 ΚΑΙ R110 ΕΥΘΥΓΡΑΜΜΙΣΘΟΥΝ, ΔΕΝ ΠΡΟΚΥΠΤΕΙ ΚΑΠΟΙΑ ΟΜΟΛΟΓΙΑ ΠΟΥ ΘΑ ΚΑΘΙΣΤΟΥΣΕ ΕΜΦΑΝΕΣ ΤΟ ΠΩΣ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΙΔΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ. ΑΥΤΟ ΔΕΝ ΞΑΦΝΙΑΖΕΙ ΔΙΟΤΙ Η ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ΟΥΤΩΣ Η ΑΛΛΩΣ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΕΥΘΥΓΡΑΜΜΗ. ΣΤΗΝ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥΣ, ΤΟ ΗΜΙΣΥ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑΣ ΑΝΤΙΚΡΥΖΕΙ ΤΟ ΥΠΟΛΟΙΠΟ ΜΙΣΟ ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΝΤΑΣ ΕΤΣΙ ΤΟΥΣ

ΔΥΟ ΚΛΑΔΟΥΣ ΤΗΣ ΑΤΕΛΟΥΣ ΔΙΠΛΗΣ ΕΛΙΚΑΣ. ΟΤΑΝ ΟΙ ΔΥΟ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ ΔΙΑΤΑΣΣΟΝΤΑΙ ΚΑΤ ΑΥΤΟΝ ΤΟΝ ΤΡΟΠΟ (ΣΧΗΜΑ 12.6Α), ΔΙΕΥΚΟΛΥΝΟΝΤΑΙ ΟΙ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΟΙ ΣΥΓΚΡΙΣΕΙΣ ΑΝΑ ΚΛΑΔΟ. ΤΟΤΕ ΑΝΑΔΕΙΚΝΥΟΝΤΑΙ ΚΑΠΟΙΑ ΚΟΙΝΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟ R80 ΚΑΙ ΣΤΟ R110 ΠΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΝΤΑΙ ΠΑΡΑΚΑΤΩ.

ΟΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ ΤΗΣ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ PSTVD (R80)

- ΑΠΟ ΤΑ 33 ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΑ ΤΟΥ ΑΝΩ ΚΛΑΔΟΥ ΤΗΣ ΕΛΙΚΑΣ ΤΟΥ R80, ΤΑ 10 ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΕΙΣ ΔΙΠΛΟΥΝ ΤΟΥ ΠΕΝΤΑΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟΥ ACAGG. ΑΝΑΜΕΣΑ ΤΟΥΣ ΥΠΑΡΧΕΙ ΕΝΑ ΔΙΑΣΤΗΜΑ 16 ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΩΝ.
- ΣΤΑ 41 ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΑ ΤΟΥ ΚΑΤΩ ΚΛΑΔΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΔΥΟ ΦΟΡΕΣ, ΚΑΙ ΜΕ ΑΠΟΣΤΑΣΗ 12 ΒΑΣΕΩΝ, ΤΟ ΕΠΤΑΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟ CCUCCU.

ΟΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ ΤΗΣ ΔΕΞΙΑΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ HSVD (R110)

- ΤΡΕΙΣ ΦΟΡΕΣ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΤΟ ΠΕΝΤΑΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟ AGAGG ΣΤΙΣ 53 ΒΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΑΝΩ ΚΛΑΔΟΥ ΤΗΣ ΕΛΙΚΑΣ ΤΟΥ R110.
- ΕΠΙΣΗΣ ΤΡΕΙΣ ΦΟΡΕΣ ΥΠΑΡΧΕΙ ΤΟ ΠΕΝΤΑΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟ CCUUC ΣΤΟΝ ΚΑΤΩ ΚΛΑΔΟ. ΤΙΣ ΔΥΟ ΑΠΟ ΑΥΤΕΣ Η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΕΠΕΚΤΕΙΝΕΤΑΙ, ΑΠΟ ΤΑ ΠΕΝΤΕ, ΣΤΑ ΕΝΝΙΑ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΑ CCUUCUUCU.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΩΝ ΤΟΥ R80 ΚΑΙ ΤΟΥ R110

ΕΙΝΑΙ ΦΑΝΕΡΗ Η ΟΜΟΙΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΩΝ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΗ. Η ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ ΤΩΝ ΑΝΩ ΚΛΑΔΩΝ, AGAGG ΤΟΥ PSTVD ΚΑΙ ACAGG ΤΟΥ HSVD, ΜΟΙΡΑΖΟΝΤΑΙ ΤΟ ΤΡΙΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟ AGG. ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΑΞΙΟΣΗΜΕΙΩΤΕΣ ΟΜΩΣ ΕΙΝΑΙ ΟΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ ΤΟΥ ΚΑΤΩ ΚΛΑΔΟΥ ΔΙΟΤΙ ΟΛΕΣ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ ΕΝΑ ΠΕΝΤΑΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟ, ΤΟ CCUUC.

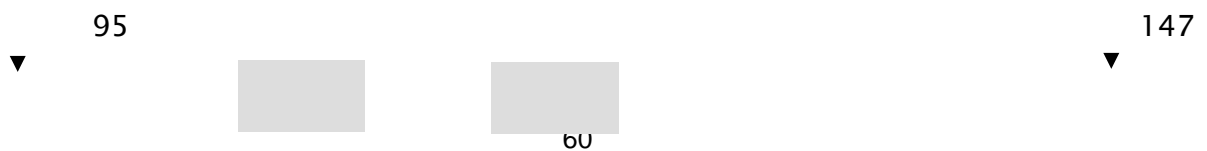
ΤΟ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ΑΥΤΩΝ ΤΩΝ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΩΝ ΕΙΝΑΙ ΟΤΙ ΟΙ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ ΠΟΥ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΗΝ Χ1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΖΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΟΥ AGG ΣΤΟΝ ΑΝΩ ΚΛΑΔΟ ΤΗΣ ΕΛΙΚΑΣ ΚΑΙ ΤΟΥ CCUUC ΣΤΟΝ ΚΑΤΩ ΚΛΑΔΟ. ΣΗΜΕΙΩΤΕΟΝ

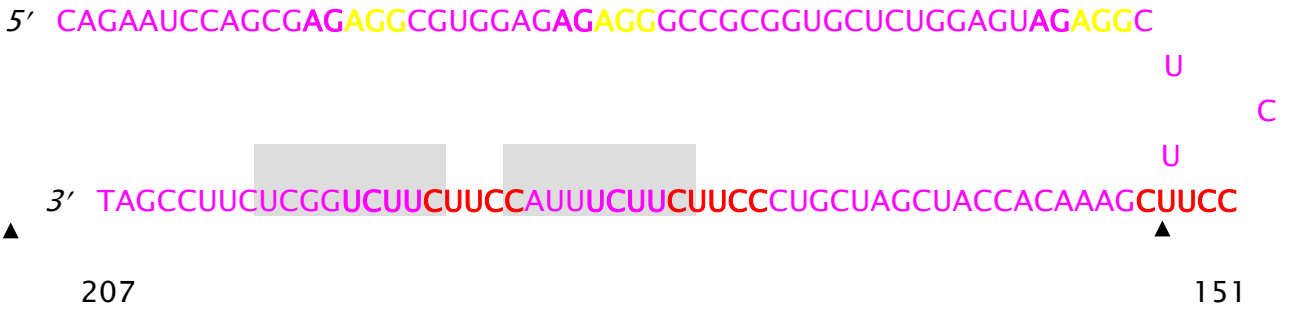
ΟΤΙ ΤΟ AGG ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΠΑΝΤΟΤΕ ΑΠΕΝΑΝΤΙ ΣΤΟ CCUUC. ΤΟ ΖΕΥΓΟΣ AGG/CCUUC ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΜΙΑΣ ΕΥΡΥΤΕΡΗΣ ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑΣ, ΤΟ ΥΠΟΛΟΙΠΟ ΤΗΣ ΟΠΟΙΑΣ ΕΙΝΑΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΟ PSTVD ΑΠΟ ΟΤΙ ΓΙΑ ΤΟ HSVD. ΤΟ ΔΟΜΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΩΝ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΩΝ ΘΑ ΦΑΝΕΙ ΣΤΗΝ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ R80 ΚΑΙ ΤΟΥ R110.

R80 (PSTVD)



R110 (HSVD)





ΣΧΗΜΑ 12.6α

ΟΙ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ ΤΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ R80 ΤΟΥ PSTVD ΚΑΙ R110 ΤΟΥ HSVD.

ΟΙ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ ΔΙΑΤΑΧΘΗΚΑΝ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΣΧΗΜΑ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΟΦΕΙΛΕΤΑΙ ΣΤΗ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΑΤΕΛΟΥΣ ΔΙΠΛΗΣ ΕΛΙΚΑΣ. ΟΙ ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΕΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ ΤΟΥ ΚΑΘΕ ΚΛΑΔΟΥ ΕΙΝΑΙ ΣΚΙΑΣΜΕΝΕΣ.

Η δευτεροταγής δομή των R80 και R110

ΤΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ FOLDRNA ΚΑΙ MFOLD ΣΥΜΦΩΝΟΥΝ ΟΤΙ Η ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗΣ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ PSTVD ΕΙΝΑΙ ΑΥΤΗ ΤΟΥ ΣΧΗΜΑΤΟΣ 12.6β.



ΣΧΗΜΑ 12.6β

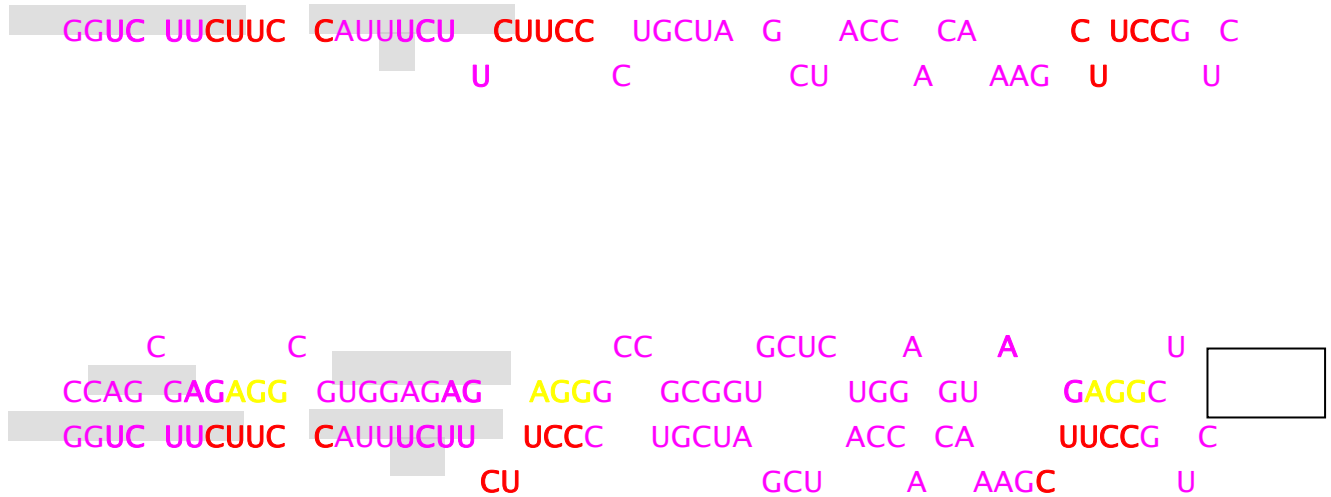
Η ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗΣ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ PSTVD.

ΟΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ ΤΟΥ ΑΝΩ ΚΑΙ ΤΟΥ ΚΑΤΩ ΚΛΑΔΟΥ ΕΙΝΑΙ ΣΤΟΙΧΙΣΜΕΝΕΣ ΚΑΙ

ΕΙΝΑΙ ΑΞΙΟΣΗΜΕΙΩΤΟ ΤΟ ΓΕΓΟΝΟΣ ΟΤΙ ΟΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ ΤΟΥ ΑΝΩ ΚΛΑΔΟΥ ΕΙΝΑΙ ΣΤΟΙΧΙΣΜΕΝΕΣ ΜΕ ΑΥΤΕΣ ΤΟΥ ΚΑΤΩ ΚΛΑΔΟΥ. ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΑ, ΤΟ ΠΕΝΤΑΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟ **ACAGG** ΤΟΥ ΑΝΩ ΚΛΑΔΟΥ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΑΚΡΙΒΩΣ ΑΠΕΝΑΝΤΙ ΑΠΟ ΤΟ ΕΠΤΑΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟ **CCUCCU** ΤΟΥ ΚΑΤΩ ΚΛΑΔΟΥ. ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΑ, ΤΟ **AGG** ΚΑΙ ΤΟ **CCU** ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΥΝ ΤΡΙΑ ΖΕΥΓΗ ΒΑΣΕΩΝ, ΕΝΩ ΑΛΛΟ ΕΝΑ ΖΕΥΓΟΣ ΒΑΣΕΩΝ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΤΑΙ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟ **A** ΚΑΙ ΤΟ **U**. ΟΙ ΥΠΟΛΟΙΠΕΣ ΤΕΣΣΕΡΕΙΣ ΒΑΣΕΙΣ, ΜΙΑ ΣΤΟΝ ΑΝΩ ΚΛΑΔΟ ΚΑΙ ΤΡΕΙΣ ΣΤΟΝ ΚΑΤΩ, ΕΙΝΑΙ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ. ΑΚΡΙΒΩΣ ΤΟ ΙΔΙΟ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΚΑΙ ΣΤΟ ΔΕΥΤΕΡΟ ΖΕΥΓΟΣ **ACAGG/CCUCCU**, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΧΕΙ ΤΗΝ ΙΔΙΑ ΑΚΡΙΒΩΣ ΔΟΜΗ ΜΕ ΤΟ ΠΡΩΤΟ. ΔΗΛΑΔΗ, Η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΤΟΥ ΖΕΥΓΟΥΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ **ACAGG/CCUCCU** ΣΤΟ PSTVD ΑΝΤΙΚΑΤΟΠΤΡΙΖΕΙ ΤΗΝ ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΤΟΥ ΔΟΜΙΚΟΥ ΣΤΟΙΧΕΙΟΥ ΠΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΥΝ.

ΜΕ ΤΟ HSVD ΤΑ ΠΡΑΓΜΑΤΑ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΤΟΣΟ ΑΠΛΑ. ΕΙΝΑΙ ΔΥΣΚΟΛΟ ΝΑ ΒΓΕΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΚΡΙΒΗ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ, ΔΙΟΤΙ ΟΧΙ ΜΟΝΟ ΔΕΝ ΣΥΜΦΩΝΟΥΝ ΑΠΟΛΥΤΑ ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΔΥΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΩΝ, ΑΛΛΑ ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΤΟ MFOLD ΠΡΟΤΕΙΝΕΙ ΑΡΚΕΤΕΣ ΔΟΜΕΣ ΩΣ ΣΧΕΔΟΝ ΙΣΟΠΙΘΑΝΕΣ. ΣΤΟ ΣΧΗΜΑ 12.6Γ ΦΑΙΝΟΝΤΑΙ ΔΥΟ ΔΟΜΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΜΕ ΤΟ MFOLD ΣΤΙΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ ΤΩΝ 25 ΚΑΙ 37°C.





ΣΧΗΜΑ 12.6γ

ΟΙ ΔΥΟ ΕΚΔΟΧΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΔΕΞΙΑΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ HSVD.

Οι μεγίστες επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες του κάθε κλάδου είναι σκιασμένες.

ΔΕΝ ΓΝΩΡΙΖΟΥΜΕ ΛΟΙΠΟΝ ΜΕ ΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑ ΑΝ ΤΑ ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΑ ΖΕΥΓΗ **AGAGG/CCUUCUUCU** ΕΧΟΥΝ ΤΗΝ ΙΔΙΑ ΔΟΜΗ ΚΑΘΕ ΦΟΡΑ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΟ HSVD. ΕΝ ΠΑΣΕΙ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙ, Η ΟΠΟΙΑ ΔΟΜΗ ΤΟΥΣ ΠΙΘΑΝΟΤΑΤΑ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΣΕ ΟΛΗ ΤΗΣ ΤΗΝ ΕΚΤΑΣΗ ΙΔΙΑ ΜΕ ΤΗΝ ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΩΝ **ACAGG/CCUUCU** ΤΟΥ PSTVD. ΕΙΝΑΙ ΩΣΤΟΣΟ ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΟ Ο ΠΥΡΗΝΑΣ **AGG/CCUUC** ΝΑ ΔΙΑΤΗΡΕΙ ΤΗΝ ΔΟΜΗ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΚΑΙ ΣΤΟ PSTVD ΕΣΤΩ ΚΑΙ ΑΝ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΔΟΜΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ. ΑΥΤΟ ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΝΑ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΣΤΗ ΜΕΣΑΙΑ ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ, ΣΤΗΝ ΔΕΥΤΕΡΗ ΕΚΔΟΧΗ ΤΗΣ ΔΕΥΤΑΡΟΤΑΓΟΥΣ ΔΟΜΗΣ ΤΟΥ HSVD. ΕΚΕΙ ΤΟ **AGG** ΖΕΥΓΑΡΩΝΕΙ ΜΕ ΤΟ **CCU** ΕΝΩ ΤΟ **UC** ΕΙΝΑΙ ΕΛΕΥΘΕΡΟ. ΤΟ ΖΕΥΓΑΡΩΜΑ ΜΕΤΑΞΥ **AGG** ΚΑΙ **CCU** ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΤΡΙΤΗ ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ, ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΔΥΟ ΔΟΜΙΚΕΣ ΕΚΔΟΧΕΣ ΤΟΥ HSVD.

12.7 ΣΥΝΟΨΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ 2

Η ΘΕΣΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΗΣ Χ1 ΣΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ PSTVD ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ. Η ΠΕΡΙΟΧΗ ΑΥΤΗ (R80) ΚΑΤΑΛΑΜΒΑΝΕΙ ΠΕΡΙΠΟΥ 80 ΒΑΣΕΙΣ ΑΠΟ ΤΙΣ 359 ΤΗΣ ΑΤΕΛΟΥΣ ΔΙΠΛΗΣ RNA ΕΛΙΚΑΣ ΤΟΥ PSTVD. ΣΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ HSVD, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΧΕΙ ΜΕΓΕΘΟΣ 299 ΒΑΣΕΩΝ, Η Χ1 ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΕΠΙΣΗΣ ΣΤΗΝ ΔΕΞΙΑ ΠΛΕΥΡΑ ΤΟΥ, ΣΕ ΕΝΑ ΤΜΗΜΑ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 110 ΒΑΣΕΩΝ (R110). ΚΟΙΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΑΥΤΕΣ ΤΙΣ ΔΥΟ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΕΙΝΑΙ Η ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ, ΣΤΟΝ ΚΑΤΩ ΚΛΑΔΟ ΤΗΣ ΕΛΙΚΑΣ, ΤΟΥ ΠΕΝΤΑΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟΥ CCUUC, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΠΑΝΤΑ ΣΥΝΟΔΕΥΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΤΡΙΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟ AGG ΣΤΟΝ ΑΝΩ ΚΛΑΔΟ. ΣΤΟ PSTVD, ΤΟ AGG ΖΕΥΓΑΡΩΝΕΙ ΜΕ ΤΙΣ ΤΡΕΙΣ ΠΡΩΤΕΣ ΒΑΣΕΙΣ ΤΟΥ CCUUC, ΚΑΙ ΠΙΘΑΝΟΤΑΤΑ ΤΟ ΙΔΙΟ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΚΑΙ ΣΤΟ HSVD. ΣΤΙΣ ΑΛΛΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΩΝ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΩΝ, ΟΙ ΟΠΟΙΕΣ ΔΕΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ, ΤΟ ΖΕΥΓΟΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ AGG/CCUUC ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ.

ΤΟ ΖΕΥΓΑΡΙ AGG/CCUUC, ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΤΟ ΠΙΟ ΕΜΦΑΝΕΣ ΔΙΑΚΡΙΤΙΚΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΤΩΝ RNA R80 ΚΑΙ R110. ΕΙΝΑΙ ΕΛΑΧΙΣΤΑ ΠΙΘΑΝΟ Η ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΟΥ, ΚΑΙ ΜΑΛΙΣΤΑ ΚΑΤ' ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ, ΣΕ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΗ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΤΥΧΑΙΑ, ΔΗΛ. ΝΑ ΜΗΝ ΕΞΥΠΗΡΕΤΕΙ ΚΑΠΟΙΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΠΟΥ ΕΞΑΣΦΑΛΙΖΟΥΝ ΤΗΝ ΔΙΑΙΩΝΙΣΗ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ. Ο ΠΛΕΟΝ ΠΡΟΦΑΝΗΣ ΤΟΥ ΡΟΛΟΣ ΕΙΝΑΙ ΝΑ ΧΡΗΣΙΜΕΥΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΟΥ RNA ΑΠΟ ΚΑΠΟΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ. Η ΜΟΝΗ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΠΟΥ ΓΝΩΡΙΖΟΥΜΕ ΟΤΙ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΙ RNA ΠΟΥ ΦΕΡΟΥΝ ΤΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ AGG/CCUUC ΕΙΝΑΙ Η Χ1. ΚΑΙ ΑΦΟΥ ΚΑΝΕΝΑ ΑΛΛΟ ΚΟΙΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΠΡΩΤΟΤΑΓΟΥΣ Η/ΚΑΙ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΟΥΣ ΔΟΜΗΣ ΔΕΝ ΠΑΡΑΤΗΡΗΘΗΚΕ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ R80 ΚΑΙ R110, ΚΑΤΑΛΗΓΟΥΜΕ, ΜΕΧΡΙ ΑΠΟΔΕΙΞΕΩΣ ΤΟΥ ΑΝΤΙΘΕΤΟΥ, ΣΤΗΝ ΥΠΟΘΕΣΗ ΟΤΙ, Η Χ1 ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΙ ΤΑ ΔΥΟ ΑΥΤΑ RNA ΑΠΟ ΤΟ AGG/CCUUC.

ΑΝ ΠΡΑΓΜΑΤΙ Η Χ1 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΟ ΔΟΜΙΚΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΕΙΣ ΔΙΠΛΟΥΝ ΣΤΟ R80, ΤΟΤΕ Η Χ1 ΕΧΕΙ ΔΥΟ ΘΕΣΕΙΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΣΤΟ PSTVD ΚΑΙ ΜΕΝΕΙ ΝΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΕΙ Ο ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ.

ΠΡΩΤΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Η ΠΡΟΣΔΕΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1

ΣΕ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΕΝΑ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΑ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ

PSTVD

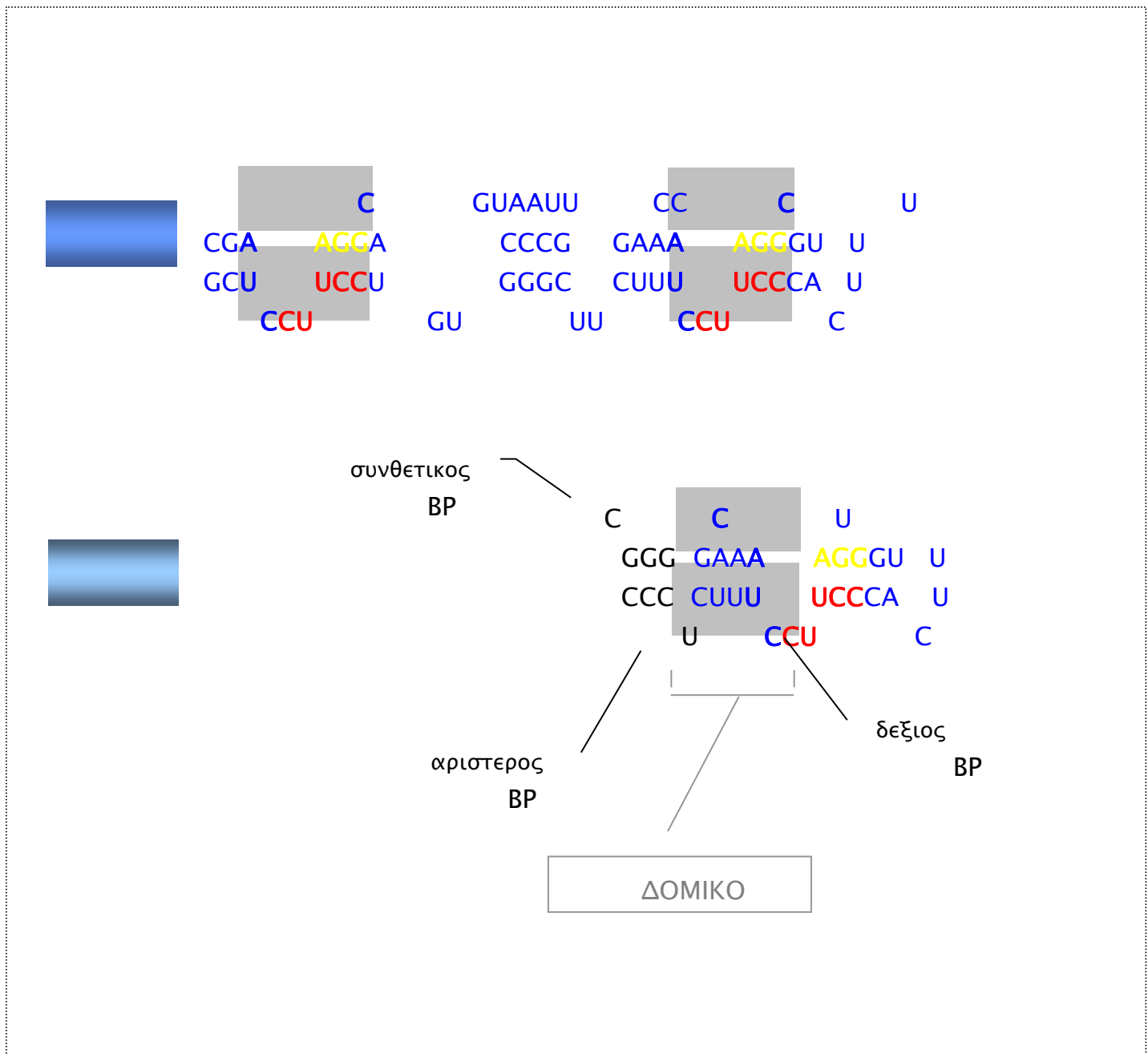
13.1 ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΤΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ 3

ΣΤΟ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΒΡΕΘΗΚΕ ΟΤΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ PSTVD, Η ΟΠΟΙΑ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ RNA R80. ΑΠΟ ΤΗ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΟΥ PSTVD RNA R80 ΜΕ ΤΟ HSVD RNA R110 ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΠΙΣΗΣ ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΣΤΗΝ Χ1, ΒΓΗΚΕ ΤΟ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ΟΤΙ ΕΙΝΑΙ ΠΟΛΥ ΠΙΘΑΝΟ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΝΑ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΙ ΤΟ ΔΟΜΙΚΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΠΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΤΟ ΖΕΥΓΟΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ AGG/CCUUC. ΤΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΑΥΤΟ ΕΙΝΑΙ ΜΕΡΟΣ ΤΟΥ ΖΕΥΓΟΥΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ACAGG/CCUUCU ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΔΥΟ ΦΟΡΕΣ ΣΤΟ R80 ΕΠΟΜΕΝΩΣ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΑΝΑΜΕΝΕΤΑΙ ΝΑ ΕΧΕΙ ΔΥΟ ΘΕΣΕΙΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΣΤΟ PSTVD. ΑΝ ΟΙ ΔΥΟ ΘΕΣΕΙΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΟΥΝ, ΕΣΤΩ ΚΑΙ ΣΕ ΚΑΠΟΙΟ ΒΑΘΜΟ, ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΑ, Η Χ1 ΘΑ ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΚΑΙ ΣΕ ΚΑΠΟΙΟ ΜΙΚΡΟΤΕΡΟ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ R80 ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ ΘΑ ΠΕΡΙΕΧΕΤΑΙ Η ΜΙΑ ΜΟΝΟ ΑΠΟ ΤΙΣ ΔΥΟ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ.

Το παρόν κεφάλαιο βασίζεται στο R34, ένα RNA στο οποίο υπάρχει λιγότερο από το δεξί ημισυ του R80, και το οποίο περιέχει την δεξιά επαναληψη ACAGG/CCUUCU. Το R34 έχει σχεδιαστεί με όσο το δυνατόν μικρότερο μέγεθος ώστε να είναι απλή η σύνθεση του, είτε ως αγριος τυπος είτε ως ποικιλομορφο, προκειμένου να χρησιμοποιηθεί στη μελέτη της επίδρασης μεταλλάγων της εν λόγω περιοχής του PSTVd στην αναγνώριση του ιοειδους από την πρωτείνη Χ1.

Η βιβλιογραφική αναζήτηση για μεταλλάξεις της εξω δεξιάς περιοχής του PSTVd έχει αναδείξει μια εργασία (Hammond 1994) στην οποία περιγράφονται μεταλλάγματα του ακραίου δεξιού βρογχου και ο φαινοτυπος τους. Τα μεταλλάγματα αυτά διαφέρουν, μεταξύ τους και από τον αγριο τυπο, ως προς την ικανότητα τους να διασκορπίζονται στη τομάτια. Είναι επομένως να υποθέσουμε πως έχει διαταραχθεί η αλληλεπίδραση τους με κάποια πρωτείνη που είναι απαραίτητη για την εν λόγω λειτουργία. Αν η πρωτείνη αυτή είναι η Χ1, τότε τα μεταλλαγμένα PSTVd RNA θα προσδεύονται σε αυτήν σε βαθμό που θα αντιστοιχεί στο μέγεθος της ικανότητάς τους να διασκορπίζονται στο φυτό. Το κατά πόσον οι εν λόγω μεταλλάξεις επηρεάζουν την αναγνώριση του PSTVd από την Χ1 είναι το ερευνητικό αντικείμενο του παρόντος κεφαλαίου. Η απάντηση δόθηκε με χρήση

δύο μεθόδων, του Northwestern και του Συστήματος των Τριών Υβριδίων. Το RNA R34, το οποίο είναι δυνατόν να «μεταλλαχθεί» κατά βούληση, σχεδιάστηκε για το πείραμα Northwestern και στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε και στο Σύστημα των Τριών Υβριδίων.



ΣΧΗΜΑ 13.1

ΤΟ RNA R34, ΚΑΙ ΤΟ RNA R80 ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΣΧΕΔΙΑΣΤΗΚΕ.

ΟΙ ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ, ΠΟΥ ΔΕΝ ΑΝΗΚΟΥΝ ΣΤΟ PSTVD, ΕΙΝΑΙ ΜΕ ΜΑΥΡΟ ΧΡΩΜΑ. ΤΟ ΔΟΜΙΚΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΕΙΝΑΙ ΣΚΙΑΣΜΕΝΟ.

13.2 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΟΥ R34 RNA ΚΑΙ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ

ΤΟ R34 RNA

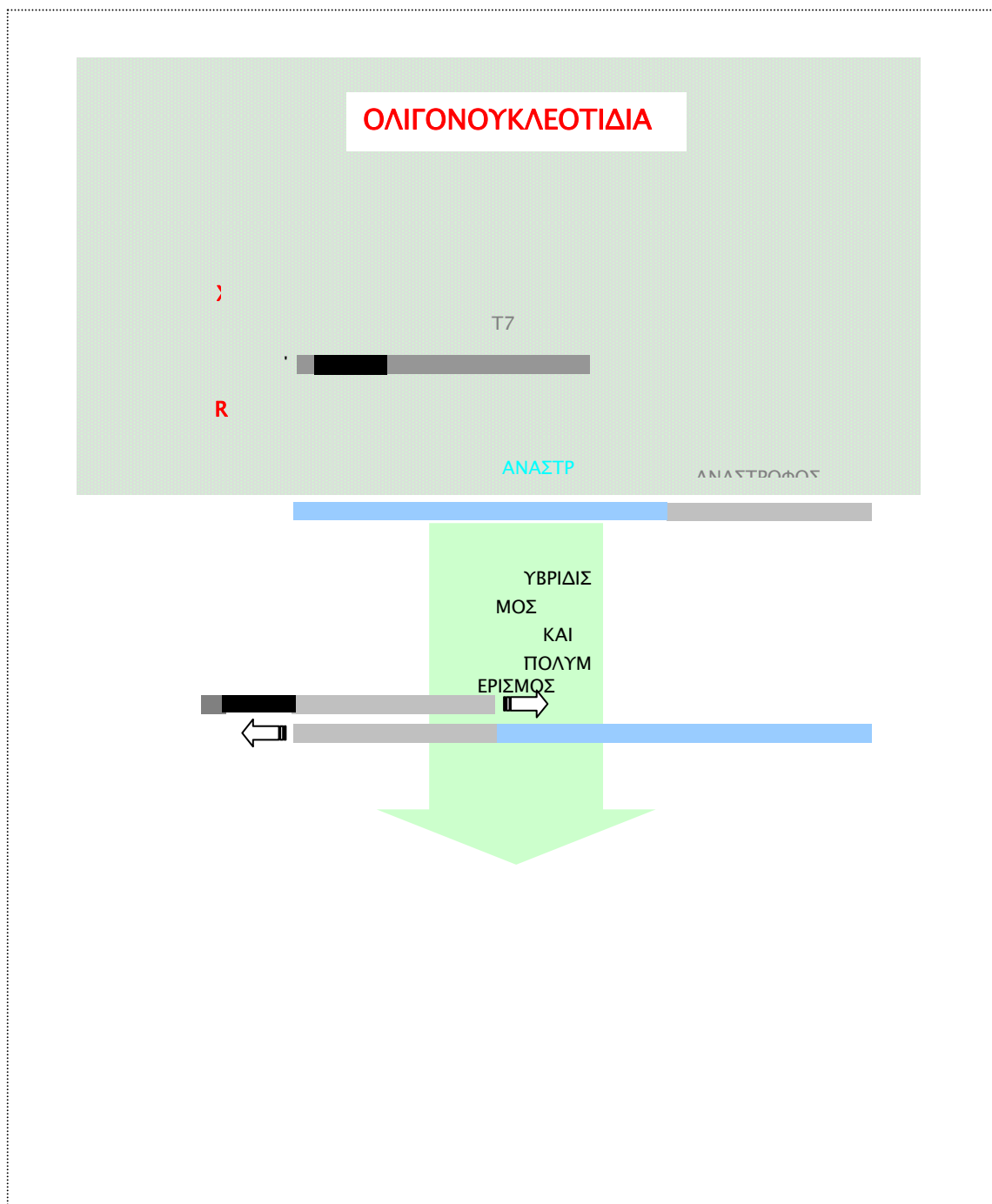
ΤΟ RNA R34 (ΣΧΗΜΑ 13.1) ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ 34 ΒΑΣΕΙΣ ΕΚ ΤΩΝ ΟΠΟΙΩΝ 26 ΑΝΗΚΟΥΝ ΣΤΟ PSTVD ΚΑΙ 8 ΕΙΝΑΙ ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ. ΟΙ 26 ΒΑΣΕΙΣ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΤΟ ΔΟΜΙΚΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΠΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΤΟ ΖΕΥΓΟΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ACAGG/CCUCCU ΜΕ ΤΟΥΣ ΔΥΟ ΔΙΠΛΟΚΛΩΝΟΥΣ ΒΡΑΧΙΟΝΕΣ ΣΤΟΥΣ ΟΠΟΙΟΥΣ ΣΥΝΔΕΕΤΑΙ ΚΑΙ ΤΟΝ ΒΡΟΓΧΟ UUUC ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΟ ΔΕΞΙ ΑΚΡΟ. ΟΙ 8 ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΒΑΣΕΙΣ, ΟΙ ΟΠΟΙΕΣ ΚΑΤΑΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΤΗΝ ΑΡΙΣΤΕΡΗ ΠΛΕΥΡΑ ΤΟΥ ΔΙΑΤΕΤΑΓΜΕΝΟΥ ΜΟΡΙΟΥ, ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΥΝ ΕΝΑΝ ΔΙΠΛΟΚΛΩΝΟ ΒΡΑΧΙΟΝΑ ΤΡΙΩΝ ΖΕΥΓΩΝ ΒΑΣΕΩΝ ΚΑΙ ΕΝΑ ΑΖΕΥΓΑΡΩΤΟ ΖΕΥΓΟΣ. Ο ΣΥΝΘΕΤΙΚΟΣ ΒΡΑΧΙΟΝΑΣ ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΚΥΡΙΩΣ ΓΙΑ ΝΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΘΕΙ Η ΔΟΜΗ. ΟΙ ΑΖΕΥΓΑΡΩΤΕΣ ΒΑΣΕΙΣ ΜΕΣΟΛΑΒΟΥΝ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟΝ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΒΡΑΧΙΟΝΑ ΚΑΙ ΤΟΝ ΑΡΙΣΤΕΡΟ ΒΡΑΧΙΟΝΑ ΤΟΥ ΔΟΜΙΚΟΥ ΣΤΟΙΧΕΙΟΥ, ΩΣΤΕ ΝΑ ΕΜΠΟΔΙΖΕΤΑΙ Ο ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΕΝΟΣ ΜΕΓΑΛΟΥ ΔΙΠΛΟΚΛΩΝΟΥ ΒΡΑΧΙΟΝΑ, ΔΙΟΤΙ ΤΕΤΟΙΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΣΤΟ PSTVD. ΤΟ ΑΖΕΥΓΑΡΩΤΟ ΖΕΥΓΟΣ ΠΟΥ ΕΠΙΛΕΧΘΗΚΕ ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΜΟΝΑΔΙΚΟ ΠΟΥ, ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ MFOLD ΚΑΙ FOLD RNA, ΔΕΝ ΕΠΗΡΕΑΖΕΙ ΤΟ ΔΟΜΙΚΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ. Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΟΥ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟΥ ΒΡΑΧΙΟΝΑ ΕΠΙΛΕΧΘΗΚΕ ΕΤΣΙ ΩΣΤΕ ΝΑ ΕΞΥΠΗΡΕΤΕΙ ΕΠΙΣΗΣ ΤΙΣ ΑΝΑΓΚΕΣ ΤΗΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ. Η ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ GGG ΤΟΥ ΑΝΩ ΚΛΑΔΟΥ ΤΟΥ ΣΥΝΘΕΤΙΚΟΥ ΒΡΑΧΙΟΝΑ ΧΡΗΣΙΜΕΥΕΙ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ T7, ΕΝΩ Η ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ CCC ΤΟΥ ΚΑΤΩ ΚΛΑΔΟΥ ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΗΜΙΣΥ ΜΙΑΣ ΘΕΣΗΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ SMAI.

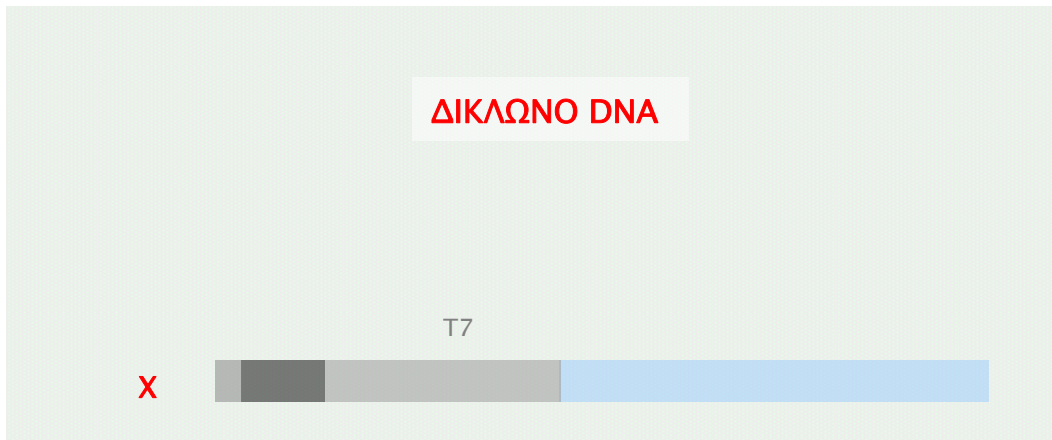
Η ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ RNA R34 ΑΠΟ ΤΗΝ ΜΗΤΡΑ ΧΤ7R34

ΤΟ RNA R34 ΜΕΤΑΓΡΑΦΕΤΑΙ *IN VITRO* ΜΕ ΤΗΝ RNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ T7, ΑΠΟ ΜΙΑ ΜΗΤΡΑ ΔΙΠΛΟΚΛΩΝΟΥ DNA 60 ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΩΝ, ΠΟΥ ΟΝΟΜΑΖΕΤΑΙ ΧΤ7R34 (ΣΧΗΜΑ 13.2). ΤΟ ΧΤ7R34 ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΜΙΑ ΘΕΣΗ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ ΧΒΑΙ, ΣΤΟ 5' ΑΚΡΟ ΤΗΣ ΟΠΟΙΑΣ ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΔΥΟ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΑ, ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟΣ ΓΙΑ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΗ Η ΠΕΨΗ ΜΕ ΤΟ ΕΝΖΥΜΟ. ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ Ο ΥΠΟΚΙΝΗΤΗΣ ΤΗΣ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ T7 ΚΑΙ ΑΜΕΣΩΣ ΜΕΤΑ ΟΙ 34 ΒΑΣΕΙΣ ΠΟΥ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΟΥΝ ΤΟ R34 RNA. Η ΘΕΣΗ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ ΧΒΑΙ ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΓΙΑ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΗ Η ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ DNA ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ PUC19, ΣΤΗ ΘΕΣΗ ΧΒΑΙ-SMAI.

Η ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ ΧΤ7R34

Η ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΔΙΚΛΩΝΟΥ DNA ΧΤ7R34 ΒΑΣΙΖΕΤΑΙ ΣΕ ΔΥΟ ΟΛΙΓΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΑ, ΤΑ ΧΒΑΤ7 ΚΑΙ R34Τ7 (ΣΧΗΜΑ 13.2). ΤΟ ΟΛΙΓΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟ ΧΒΑΤ7 ΣΤΙΣ 28 ΤΟΥ ΒΑΣΕΙΣ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΤΗΝ ΧΒΑΙ ΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΟΝ Τ7 ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ. ΟΙ 52 ΒΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΟΛΙΓΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟΥ R34Τ7 ΕΙΝΑΙ ΟΙ 34 ΒΑΣΕΙΣ ΠΟΥ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΟΥΝ ΤΟ R34 ΣΥΝ ΤΙΣ 18 ΤΟΥ Τ7 ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ, ΣΕ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗ ΠΟΛΙΚΟΤΗΤΑ. ΑΦΟΥ ΤΑ ΔΥΟ ΟΛΙΓΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΑ ΥΒΡΙΔΙΣΘΟΥΝ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ, ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΜΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΥ ΜΕ ΤΟ ΚΟΜΜΑΤΙ ΚΛΕΝΩ ΤΗΣ *E. COLI* DNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ .





13.3 Η ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΟΥ NORTHWESTERN

ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΕΝΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΟ (SAEGESSER *ET AL* 1997) ΜΕΛΕΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΜΕ RNA. ΟΙ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΑΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΜΕΝΕΣ ΣΕ ΜΕΜΒΡΑΝΗ, Η ΟΠΟΙΑ ΕΠΩΑΖΕΤΑΙ ΜΕ ΡΑΔΙΟΣΗΜΑΣΜΕΝΟ RNA. ΑΝ ΤΟ RNA ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΚΑΠΟΙΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ, ΤΟΤΕ ΘΑ ΣΥΓΚΡΑΤΗΘΕΙ ΠΑΝΩ ΣΤΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΣΤΗΝ ΘΕΣΗ ΟΠΟΥ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΑΥΤΗ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ. ΕΤΣΙ, ΣΤΟ ΣΗΜΕΙΟ ΕΚΕΙΝΟ ΘΑ ΑΝΙΧΝΕΥΕΤΑΙ ΡΑΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ.

ΤΟ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟ ΠΕΙΡΑΜΑ ΣΚΟΠΕΥΕΙ ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΟΥ ΒΑΘΜΟΥ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1 ΜΕ ΤΕΣΣΕΡΑ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΑ ΤΟΥ R34 ΠΟΥ ΦΕΡΟΥΝ ΤΙΣ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΕΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ ΕΞΩ ΔΕΞΙΟΥ ΒΡΟΓΧΟΥ (HAMMOND 1994).

Παρασκευή των μεμβρανών

ΣΤΟ ΠΕΙΡΑΜΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΤΡΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΑΠΟ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ *E. COLI* (MARTINEZ Ε, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ). ΤΟ ΠΡΩΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ

ΧΡΗΣΙΜΕΥΕΙ ΩΣ ΑΡΝΗΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ (C). ΤΟ ΔΕΥΤΕΡΟ ΠΡΟΕΡΧΕΤΑΙ ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΕΚΦΡΑΖΕΤΑΙ Ο ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΟΣ ΚΛΩΝΟΣ ΤΗΣ Χ1 (1,8 ΚΒΡ ΑΝΟΙΧΤΟ ΠΛΑΙΣΙΟ) ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΤΡΙΤΗ Ο ΜΙΚΡΟΤΕΡΟΣ ΔΗΛ. ΤΟ ΚΑΡΒΟΞΥΤΕΛΙΚΟ ΑΚΡΟ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ, Χ1CΤ (1,0 ΚΒΡ ΑΝΟΙΧΤΟ ΠΛΑΙΣΙΟ).

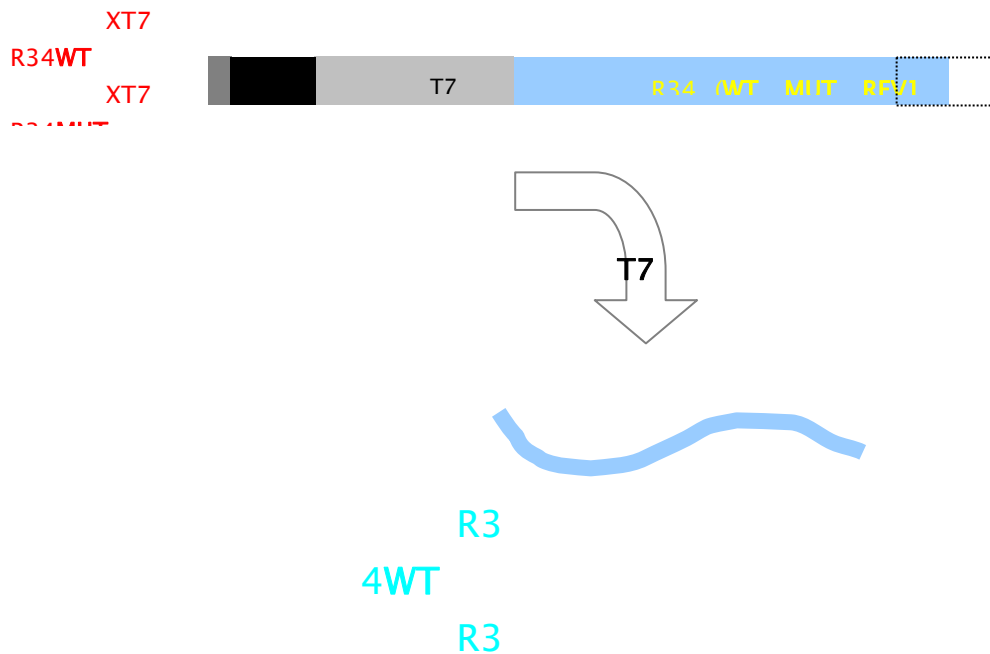
ΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΟΥΝΤΑΙ ΣΕ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ ΠΗΚΤΩΜΑ ΑΚΡΙΛΑΜΙΔΙΟΥ 10% ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΣΥΝΕΧΕΙΑ ΓΙΝΕΤΑΙ ΗΛΕΚΤΡΟΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΣΕ ΜΕΜΒΡΑΝΗ. ΟΙ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ, ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΠΛΕΟΝ ΑΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΜΕΝΕΣ ΣΕ ΜΙΑ ΜΕΜΒΡΑΝΗ, ΕΠΑΝΑΔΙΑΤΑΣΣΟΝΤΑΙ ΚΑΙ ΚΑΘΕ ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΥΒΡΙΔΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΕΝΑ ΡΑΔΙΟΣΗΜΑΣΜΕΝΟ RNA.

ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΡΑΔΙΟΣΗΜΑΣΜΕΝΩΝ RNA

ΤΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ R34 ΣΧΕΔΙΑΣΤΗΚΕ ΕΤΣΙ ΩΣΤΕ ΝΑ ΕΠΙΤΡΕΠΕΙ ΤΗΝ ΣΥΝΘΕΣΗ ΟΠΟΙΟΥΔΗΠΟΤΕ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΟΥ ΤΟΥ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟΥ RNA. ΑΡΚΕΙ Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΟΥ ΟΛΙΓΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΟΥ R34T7 ΝΑ ΔΙΑΜΟΡΦΩΘΕΙ ΚΑΤΑΛΛΗΛΑ.

ΓΙΑ ΤΟ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟ ΠΕΙΡΑΜΑ ΠΑΡΑΓΓΕΛΘΗΚΑΝ ΤΕΣΣΕΡΑ ΟΛΙΓΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΑ, ΤΑ R34WTT7, R34MUT T7, R34REV1T7 ΚΑΙ R34REV2T7. ΜΕ ΒΑΣΗ ΑΥΤΑ ΣΥΝΤΕΘΗΚΑΝ ΤΑ ΤΕΣΣΕΡΑ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΑ DNA (ΧΤ7R34WT, ΧΤ7R34MUT, ΧΤ7R34REV1, ΧΤ7R34REV2), ΟΠΩΣ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗΚΕ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΩΣ (ΣΧΗΜΑ 13.2). ΤΟ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ PUC18, ΣΤΙΣ ΘΕΣΕΙΣ ΧΒΑΙ ΚΑΙ SMAI. ΤΑ ΤΕΣΣΕΡΑ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΑ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑ, ΔΗΛ. ΤΑ R34WTPUC, R34MUTPUC, R34REV1PUC ΚΑΙ R34REV2PUC, ΓΡΑΜΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΗ ΘΕΣΗ SMAI, ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΟΥΝ ΩΣ ΜΗΤΡΕΣ ΓΙΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ T7.

ΤΑ ΤΕΣΣΕΡΑ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΑ ΤΟΥ R34 ΣΥΝΤΕΘΗΚΑΝ, ΤΟ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΜΗΤΡΑ ΤΟΥ, ΩΣ ΡΑΔΙΟΣΗΜΑΣΜΕΝΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ ΤΗΣ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ T7 (ΣΧΗΜΑ 13.3Α). ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΟΝ ΑΓΡΙΟ ΤΥΠΟ, R34WT, ΚΑΙ ΓΙΑ ΤΡΙΑ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΑ, ΤΑ R34MUT, R34REV1 ΚΑΙ R34REV2 (ΣΧΗΜΑ 13.3Β).



ΣΧΗΜΑ Ι3.3Α

Η ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΩΝ ΤΟΥ RNA R34 (R34WT, R34MUT, R34REV1, R34REV2) ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΕΣ ΜΗΤΡΕΣ ΤΟΥΣ.

ΤΑ DNA XT7R34WT, XT7R34MUT, XT7R34REV1 ΚΑΙ XT7R34REV2 ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΟΥΝ ΩΣ ΜΗΤΡΕΣ ΕΙΤΕ ΟΠΩΣ ΕΙΝΑΙ, ΕΙΤΕ

ΑΠΟΧΛΗΡΩΝΟΜΕΝΟΙ ΣΤΟ ΠΡΩΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΚΑΙ ΣΤΑ

C C U
 GGG GAAA AGGU U
 CCC CUUU UCCA U
 U CCU C



C C AA
 GGG GAAA AGGG U
 CCC CUUU UCCC U
 U CC AC



C C UU
 GGG GAAA AGGA U
 CCC CUUU UCCU U
 U CCU C



C C AA
 GGG GAAA AGGG A
 CCC CUUU UCCU U
 U CCU C



13.4 Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΩΝ ΤΟΥ R34 ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1, ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑ NORTHWESTERN

ΤΟ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΤΕΣΣΕΡΑ ΡΑΔΙΟΣΗΜΑΣΜΕΝΑ R34 RNA ΕΠΩΑΣΤΗΚΕ ΜΕ ΜΙΑ ΜΕΜΒΡΑΝΗ. ΟΙ ΤΕΣΣΕΡΙΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ ΜΕ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΤΡΟΠΟ, ΟΠΩΣ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗΚΕ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΩΣ. ΤΑ ΤΕΣΣΕΡΑ ΑΥΤΟΡΑΔΙΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΙΚΟΝΑ 13.4 ΚΑΙ ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥΣ ΑΝΑΛΥΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΣΥΝΕΧΕΙΑ.

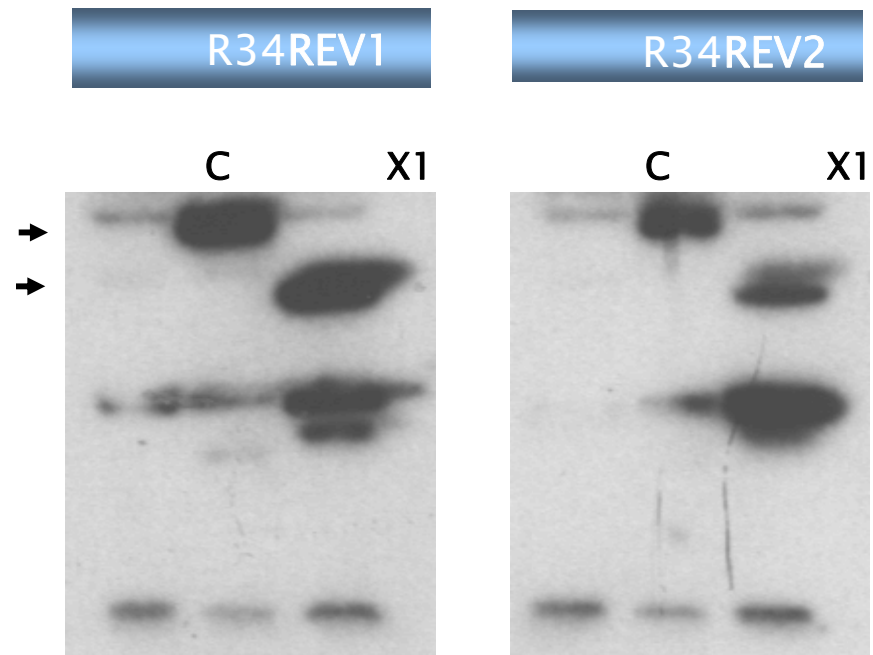
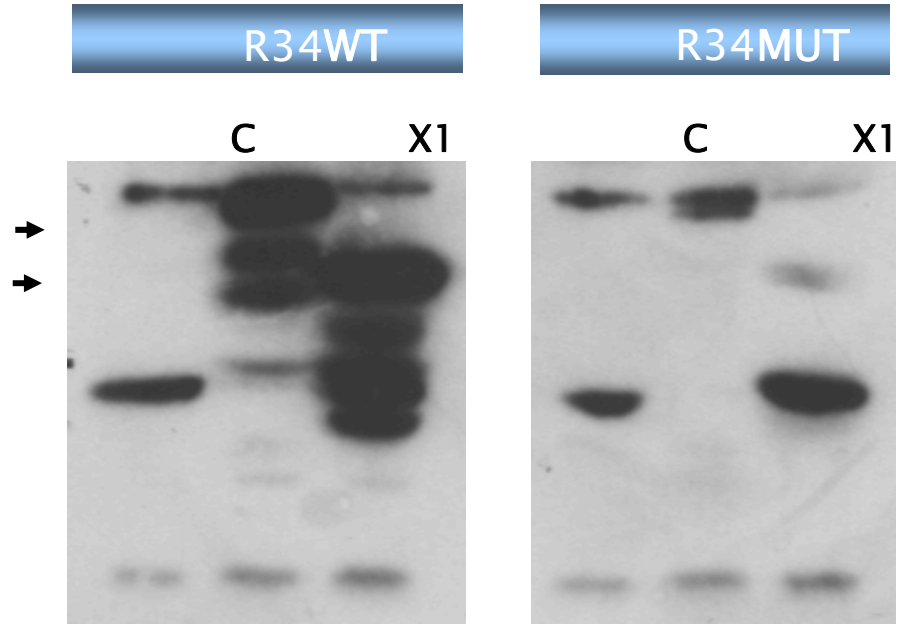
ΤΟ RNA R34WT

ΣΤΗΝ ΑΥΤΟΡΑΔΙΟΓΡΑΦΙΑ (ΕΙΚΟΝΑ 13.4) ΤΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΠΟΥ ΕΠΩΑΣΤΗΚΕ ΜΕ ΤΟ ΡΑΔΙΟΣΗΜΑΣΜΕΝΟ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ R34WT ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ, ΣΤΗΝ ΔΕΥΤΕΡΗ ΔΙΑΔΡΟΜΗ, ΜΙΑ ΠΟΛΥ ΕΝΤΟΝΗ ΖΩΝΗ ΣΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1. ΟΜΟΙΑΣ ΕΝΤΑΣΗΣ ΖΩΝΗ ΥΠΑΡΧΕΙ ΣΤΗΝ ΤΡΙΤΗ ΔΙΑΔΡΟΜΗ, ΑΥΤΗ ΤΗΝ ΦΟΡΑ ΣΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ ΤΗΣ Χ1CT. ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΔΥΟ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΜΙΚΡΟΤΕΡΕΣ ΖΩΝΕΣ ΠΟΥ ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΕ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ Η ΑΤΕΛΟΥΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ. ΟΙ ΖΩΝΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΑΝΑΦΕΡΘΗΚΑΝ ΔΕΝ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΗ ΔΙΑΔΡΟΜΗ ΟΠΟΥ ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ. ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΗΣ Χ1 ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΝΑ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΟ R34WT RNA.

ΤΟ RNA R34MUT

ΣΤΟ R34WT (ΣΧΗΜΑ 13.3B) Ο ΕΞΩ ΔΕΞΙΟΣ ΒΡΑΧΙΟΝΑΣ ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ 5 ΖΕΥΓΗ ΒΑΣΕΩΝ. ΤΟ ΑΝΩ ΜΕΡΟΣ ΤΟΥ ΒΡΑΧΙΟΝΑ ΚΑΤΑΛΗΓΕΙ ΜΕ ΤΗΝ ΒΑΣΗ U. ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΑΛΛΗ ΜΙΑ ΒΑΣΗ U, Η ΠΡΩΤΗ ΑΠΟ ΤΙΣ 4 ΒΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΒΡΟΓΧΟΥ ΠΟΥ ΕΠΙΤΡΕΠΕΙ ΤΗΝ ΑΝΑΣΤΡΟΦΗ ΤΗΣ RNA ΑΛΥΣΙΔΑΣ. ΣΤΟ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ R34WT ΟΙ ΒΑΣΕΙΣ ΑΥΤΕΣ ΚΑΤΑΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΤΙΣ ΘΕΣΕΙΣ 14 ΚΑΙ 15. ΣΤΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ MUT (ΣΧΗΜΑ 13.3B) ΤΟ ΖΕΥΓΟΣ UU ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΙΣ ΘΕΣΕΙΣ 14 ΚΑΙ 15 ΕΧΕΙ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΘΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΤΡΙΠΛΕΤΑ GAA. ΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗΣ ΑΛΛΑΓΗΣ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑΣ ΕΙΝΑΙ ΝΑ ΑΛΛΑΖΕΙ Η ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗΣ ΔΟΜΗ ΤΟΥ RNA. Ο ΚΑΤΩ ΚΛΩΝΟΣ ΤΟΥ ΔΕΞΙΟΥ ΒΡΑΧΙΟΝΑ ΜΕΤΑΤΟΠΙΖΕΤΑΙ ΚΑΤΑ ΜΙΑ ΘΕΣΗ ΠΡΟΣ ΤΑ ΔΕΞΙΑ ΩΣΤΕ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΣ Ο ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΕΝΟΣ ΒΡΑΧΙΟΝΑ 5 ΖΕΥΓΩΝ ΒΑΣΕΩΝ. Ο ΑΚΡΑΙΟΣ ΒΡΟΓΧΟΣ ΕΧΕΙ ΤΩΡΑ 6 ΒΑΣΕΙΣ. ΑΠΟ ΤΟ UCC ΠΟΥ ΥΠΗΡΧΕ ΣΤΗΝ ΠΡΟΕΞΟΧΗ ΤΟΥ WT, ΕΧΕΙ ΜΕΙΝΕΙ ΣΤΟ MUT ΜΟΝΟ ΤΟ CC, ΑΦΟΥ ΤΟ U ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΠΛΕΟΝ ΜΕΡΟΣ ΤΟΥ ΒΡΑΧΙΟΝΑ.

ΣΤΗΝ ΕΙΚΟΝΑ 13.4 ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΟΤΙ ΟΙ ΖΩΝΕΣ ΠΟΥ ΜΕ ΤΟ R34WT ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ Χ1, ΜΕ ΤΟ R34MUT ΔΕΝ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΧΕΔΟΝ ΚΑΘΟΛΟΥ. ΑΝ ΚΑΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΜΕΜΒΡΑΝΗ, ΔΕΝ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙ ΜΕ ΤΟ ΡΑΔΙΟΣΗΜΑΣΜΕΝΟ R34MUT.



ΤΑ RNA R34REV1 ΚΑΙ R34REV2

ΣΤΟ R34 REV1 (ΣΧΗΜΑ 13.3B) Η ΤΡΙΠΛΕΤΑ ΓΑΑ ΜΕΤΑΛΛΑΣΕΤΑΙ ΣΕ ΑΥΥ, ΕΝΩ ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΑ ΤΟ Α ΣΤΟ ΤΕΛΟΣ ΤΟΥ ΒΡΟΓΧΟΥ ΣΕ U. ΤΟ ΚΑΤΩ ΜΕΡΟΣ ΤΟΥ ΒΡΑΧΙΟΝΑ ΕΠΑΝΕΡΧΕΤΑΙ ΜΙΑ ΘΕΣΗ ΑΡΙΣΤΕΡΑ, ΜΕ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ Ο ΒΡΟΓΧΟΣ ΝΑ ΧΑΝΕΙ ΜΙΑ ΒΑΣΗ ΚΑΙ Η ΠΡΟΕΞΟΧΗ ΝΑ ΞΑΝΑΒΡΙΣΚΕΙ ΤΟ ΧΑΜΕΝΟ ΤΗΣ U.

ΠΑΡΟΜΟΙΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΕΧΟΥΝ ΚΑΙ ΟΙ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ R34REV2 (ΣΧΗΜΑ 13.3B). ΚΑΙ ΣΕ ΑΥΤΟ ΤΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ, ΟΠΩΣ ΚΑΙ ΣΤΟ R34REV1, Ο ΒΡΑΧΙΟΝΑΣ ΚΑΙ Η ΠΡΟΕΞΟΧΗ ΕΠΙΣΤΡΕΦΟΥΝ ΣΤΗΝ ΑΡΧΙΚΗ, ΤΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ R34WT. Ο ΒΡΟΓΧΟΣ ΟΜΩΣ ΤΟΥ R34REV2 ΕΞΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΣ ΑΠΟ ΤΟΥ R34WT.

ΣΤΗΝ ΕΙΚΟΝΑ 13.4 ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΟΤΙ ΚΑΙ ΣΤΑ ΔΥΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΑ ΑΠΟΚΑΘΙΣΤΑΤΑΙ Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1, ΑΝ ΚΑΙ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΒΑΘΜΟ ΓΙΑ ΤΟ ΚΑΘΕΝΑ, ΔΗΛ. ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΓΙΑ ΤΟ REV1 ΑΠΟ ΟΤΙ ΓΙΑ ΤΟ REV2.

13.5 Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΩΝ ΤΟΥ R34 ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1, ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ

ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗΚΕ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΩΣ (1Ε.3). ΕΔΩ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΓΙΑ ΝΑ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΘΟΥΝ ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΜΕ ΑΥΤΑ ΤΟΥ NORTHWESTERN.

ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ AD-X1CT (11.1), ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΕΝΑ ΚΑΡΒΟΞΥΤΕΛΙΚΟ ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ X1. ΑΥΤΟ ΤΟ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟ ΥΒΡΙΔΙΟ ΣΥΝΔΥΑΣΤΗΚΕ ΜΕ ΤΟ MS2 (ΑΡΝΗΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ) ΚΑΙ ΤΕΣΣΕΡΑ RNA ΥΒΡΙΔΙΑ ΠΟΥ ΦΕΡΟΥΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ ΤΑ ΤΕΣΣΕΡΑ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΑ ΤΟΥ R34. ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΑ ΥΒΡΙΔΙΑ MS2-R34WT, MS2-R34MUT, MS2-R34REV1 ΚΑΙ MS2-R34REV2, ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ ΟΠΩΣ ΘΑ ΠΕΡΙΓΡΑΦΕΙ ΕΥΘΥΣ ΑΜΕΣΩΣ.

ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΤΩΝ ΤΕΣΣΑΡΩΝ RNA ΥΒΡΙΔΙΩΝ MS2-R34

ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΤΩΝ RNA ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΠΑΛΙ Ο ΦΟΡΕΑΣ PIII/MS2-1 (11.1). ΤΑ ΕΝΘΕΜΑΤΑ ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΟΜΑΔΑ ΠΛΑΣΜΙΔΙΩΝ R34PUC, ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ ΜΕ ΕΝΘΕΣΗ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ DNA XT7R34 (ΣΧΗΜΑ 13.2) ΣΤΗΝ SMAI ΘΕΣΗ ΤΟΥ PUC18. Η SMAI ΘΕΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΕΤΑΙ ΑΠΟ ΔΥΟ ΘΕΣΕΙΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ TAQI. ΕΤΣΙ, ΣΤΟ TAQI ΚΟΜΜΑΤΙ ΕΝΟΣ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ R34PUC (ΣΧΗΜΑ 13.5) ΥΠΑΡΧΕΙ ΤΟ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΟ XT7R34 DNA ΕΝ ΜΕΣΩ ΔΥΟ ΜΙΚΡΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ΤΟΥ PUC18.

ΤΟ TAQI ΚΟΜΜΑΤΙ ΑΠΟ ΤΟ ΚΑΘΕ R34PUC ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΟΝ ΦΟΡΕΑ PIII/MS2-1, ΓΙΑ ΝΑ ΔΩΣΕΙ ΤΗΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΗ R34IIIMS2-1 ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ. ΕΤΣΙ, ΣΤΟ ΥΒΡΙΔΙΟ ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΜΙΑ ΤΕΤΟΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ, ΔΙΠΛΑ ΣΤΟ MS2 ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΤΟ R34TAQ RNA. ΤΟ R34TAQ RNA (ΣΧΗΜΑ 13.5) ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΟΛΙΓΑΡΙΘΜΕΣ ΒΑΣΕΙΣ ΤΟΥ PUC18, ΤΟΝ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ T7 ΚΑΙ ΑΚΟΛΟΥΘΟΥΝ ΤΟ R34 ΜΕ ΜΙΑ ΔΕΥΤΕΡΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΟΥ PUC18, ΜΕΓΕΘΟΥΣ 12 ΒΑΣΕΩΝ.

ΤΟ TAQ ΚΟΜΜΑΤΙ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ

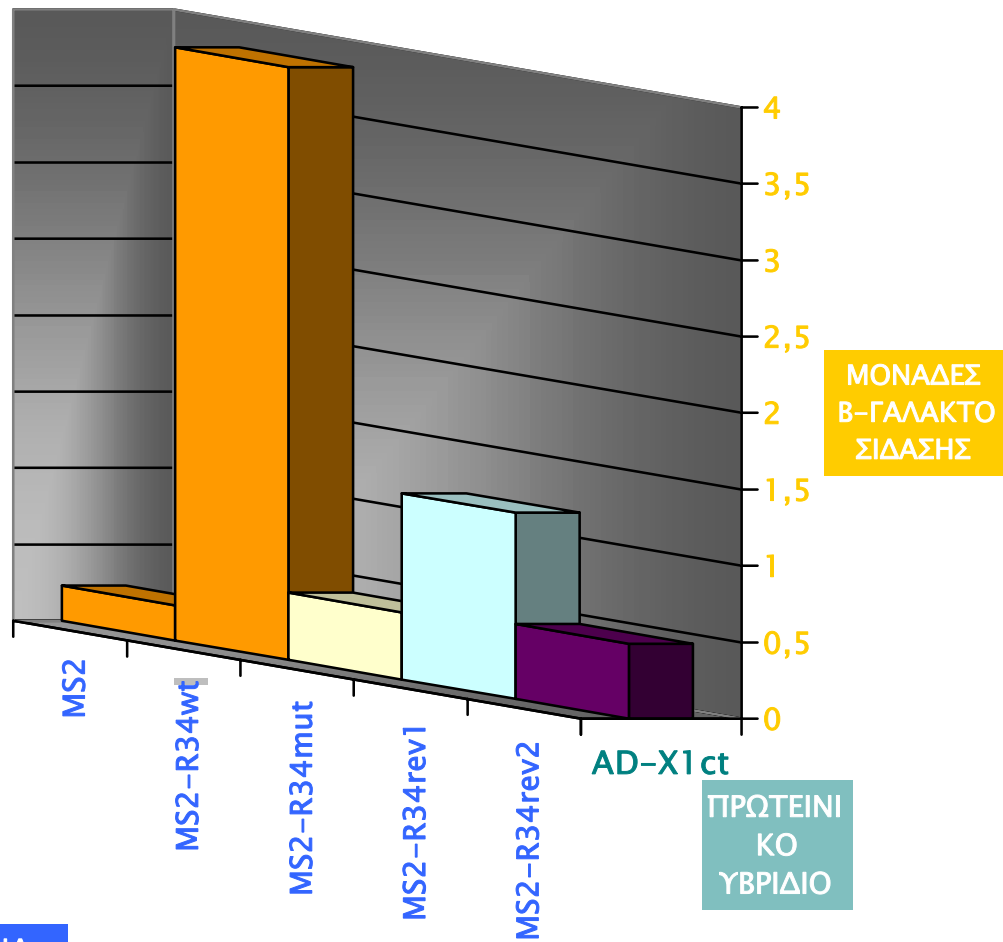




ΤΟ RNA

ΠΙΝΑΚΑΣ 13.5

ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΚΑΙ ΤΑ ΤΕΣΣΕΡΑ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΑ ΤΟΥ RNA R34.



RNA ΥΒΡΙΔΙΟ	AD-X1ct
MS2	0,23
MS2-R34wt	3,88
MS2-R34mut	0,44
MS2-R34rev1	1,22
MS2-R34rev2	0,49

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ (ΠΙΝΑΚΑΣ 13.5)

ΤΟ ΥΒΡΙΔΙΟ MS2-R34WT ΑΥΞΑΝΕΙ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΤΗΣ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗΣ 17,5 ΦΟΡΕΣ ΠΑΡΑΠΑΝΩ ΑΠΟ ΟΤΙ ΤΟ MS2. ΤΟ MS2-R34MUT ΜΟΝΟ 2 ΦΟΡΕΣ. ΣΤΟ MS2-R34REV1 Η ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΕ ΕΝΔΙΑΜΕΣΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΔΗΛ. 5,5 ΦΟΡΕΣ ΕΝΩ ΣΤΟ MS2-R34REV2 ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΙΝΑΙ ΧΑΜΗΛΑ, ΚΑΤΙ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΑΠΟ 2 ΦΟΡΕΣ.

ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΠΑΡΑΠΑΝΩ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΕΙΝΑΙ ΞΕΚΑΘΑΡΟ ΟΤΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΟ R34WT. ΜΕ ΤΟ R34MUT Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΟΛΙΣ ΠΟΥ ΠΑΡΑΤΗΡΕΙΤΑΙ, ΚΑΙ ΤΟ ΙΔΙΟ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΜΕ ΤΟ R34REV2. ΤΟ R34REV1 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ Χ1 ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΑΠΟ ΟΤΙ ΤΑ R34MUT ΚΑΙ R34REV2, ΑΛΛΑ ΣΑΦΩΣ ΛΙΓΟΤΕΡΟ ΑΠΟ ΟΤΙ ΤΟ R34WT.

13.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ 3

ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΔΥΟ ΜΕΘΟΔΩΝ (NORTHWESTERN ΚΑΙ THREE HYBRID) ΣΥΜΦΩΝΟΥΝ ΣΤΟ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ΟΤΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΟ RNA R34. ΤΟ R34 (ΣΧΗΜΑ 13.1) ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΤΙΣ 28 ΒΑΣΕΙΣ ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΔΕΞΙ ΑΚΡΟ ΤΗΣ ΡΑΒΔΟΥ ΠΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΤΟ PSTVD. ΣΕ ΑΥΤΕΣ ΤΙΣ 28 ΒΑΣΕΙΣ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ Η ΔΕΞΙΑ ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΤΟΥ ΔΟΜΙΚΟΥ ΣΤΟΙΧΕΙΟΥ ΚΑΙ Ο ΔΕΞΙΟΣ ΒΡΟΓΧΟΣ.

ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΔΥΟ ΜΕΘΟΔΟΥΣ, Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΟΥ RNA R34MUT ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΣΧΕΔΟΝ ΕΞΑΦΑΝΙΖΕΤΑΙ. ΣΤΟ R34REV1 Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΠΑΝΕΡΧΕΤΑΙ, ΛΙΓΟΤΕΡΟ ΟΜΩΣ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΑΠΟ ΟΤΙ ΣΤΟ NORTHWESTERN. ΑΞΙΟΣΗΜΕΙΩΤΗ ΕΙΝΑΙ Η ΔΙΑΦΟΡΑ ΣΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΔΥΟ ΜΕΘΟΔΩΝ ΟΣΟΝ ΑΦΟΡΑ ΤΟ R34REV2. Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΜΕ ΤΗΝ Χ1 ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΠΙΟ ΕΝΤΟΝΗ ΣΤΟ NORTHWESTERN ΑΠΟ ΟΤΙ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ.

ΠΑΡΑ ΤΙΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ, Η ΙΕΡΑΡΧΙΑ ΤΩΝ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΩΝ ΤΟΥ R34 ΟΣΟΝ ΑΦΟΡΑ ΤΗΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥΣ ΝΑ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1, ΔΙΑΤΗΡΕΙΤΑΙ ΣΤΙΣ ΔΥΟ ΜΕΘΟΔΟΥΣ. ΤΟ WT ΕΙΝΑΙ ΦΥΣΙΚΑ ΤΟ ΙΣΧΥΡΟΤΕΡΟ ΚΑΙ ΑΚΟΛΟΥΘΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ REV1. ΕΠΕΤΑΙ ΤΟ REV2 ΜΕ ΜΙΚΡΗ ΔΙΑΦΟΡΑ ΑΠΟ ΤΟ MUT. Η ΙΕΡΑΡΧΙΑ ΑΥΤΗ ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΑΥΤΗ

ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΝ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΩΝ ΤΟΥ ΡSTVD ΝΑ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΦΥΤΟ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ (HAMMOND 1994). Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΑΥΤΗΣ ΤΗΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗΣ ΘΑ ΑΠΟΔΟΘΕΙ ΣΤΗΝ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΠΟΥ ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ.

ΠΡΩΤΟ ΜΕΡΟΣ

συζήτηση

ΙΣ.1 ΤΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΤΗΣ ΣΥΖΗΤΗΣΗΣ

ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΕΓΚΑΙΝΙΑΖΕΤΑΙ Η ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΑΜΕΣΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΜΕ ΤΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥΣ. ΟΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΠΙΣΤΟΠΟΙΟΥΝ ΤΗΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1 ΜΕ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ PSTVD ΚΑΙ HSVD *IN VIVO* ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ, ΕΝΩ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΖΟΥΝ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΣΕ ΑΥΤΑ ΤΑ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΗ. ΣΤΙΣ ΔΥΟ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΕΝΤΟΠΙΖΟΝΤΑΙ ΚΟΙΝΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΤΑΓΟΥΣ ΚΑΙ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΟΥΣ ΔΟΜΗΣ ΤΟΥ RNA, ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΠΙΤΡΕΠΟΥΝ ΑΣΦΑΛΕΙΣ ΠΡΟΒΛΕΨΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΠΟΙΑ ΑΠΟ ΤΑ ΠΟΛΥΑΡΙΘΜΑ ΙΟΕΙΔΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ. ΠΡΟΠΑΝΤΟΣ ΟΜΩΣ, ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ PSTVD, ΥΠΟΔΕΙΚΝΥΕΤΑΙ ΜΙΑ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΖΗΤΗΣΗ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1.

ΙΣ.2 Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΙΟΕΙΔΗ ΠΟΥ ΠΡΟΣΒΑΛΛΟΥΝ ΤΟ ΦΥΤΟ

Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΕΧΕΙ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΘΕΙ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΠΟΥ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΕ Η ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΑΤΡΙΒΗ, ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΣΑΡΩΣΗΣ ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΩΝ CDNA ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΩΝ Η ΟΠΟΙΑ ΕΙΧΕ ΑΝΑΠΤΥΧΘΕΙ ΣΤΟ ΙΔΙΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΗΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΠΟΥ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΙΟΕΙΔΗ (SAEGESSER *ET AL*, 1997). Ο ΚΛΩΝΟΣ ΤΗΣ Χ1 ΕΙΧΕ ΕΝΤΟΠΙΣΤΕΙ ΧΑΡΗ ΣΤΗΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟΥ ΤΟΥ ΠΡΟΙΟΝΤΟΣ ΝΑ ΠΡΟΣΔΕΝΕΙ ΤΟ RNA HA106, ΕΝΑ ΕΚΤΕΤΑΜΕΝΟ ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ PSTVD (MARTINEZ Ε, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ). ΜΕ ΤΗΝ ΙΔΙΑ *IN VITRO* ΜΕΘΟΔΟ ΕΙΧΕ ΔΙΑΠΙΣΤΩΘΕΙ ΟΤΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΚΑΙ ΜΕ ΤΑ ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ PSTVD RNA (+), ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ ΟΤΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΚΑΙ ΜΕ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ HSVD (MARTINEZ Ε, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ).

ΣΤΟ ΠΡΩΤΟ ΜΕΡΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ Η ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΜΕΤΑΦΕΡΘΗΚΕ ΣΕ ΕΝΑ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ, ΚΑΙ ΜΑΛΙΣΤΑ *IN VIVO* ΣΥΣΤΗΜΑ. ΣΕ ΑΥΤΟ, ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ, ΚΑΤΑΣΤΑΘΗΚΕ ΕΠΙΤΥΧΗΣ Η ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1 ΣΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ PSTVD. ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΛΟΙΠΟΝ ΓΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΚΑΙ RNA ΠΟΥ, ΕΝΩ

ΕΧΟΥΝ ΠΡΟΕΛΘΕΙ ΑΠΟ ΤΟ ΦΥΤΟ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ, ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΑΦ ΕΝΟΣ ΣΕ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΑΦ ΕΤΕΡΟΥ ΜΕΣΑ ΣΤΑ ΖΩΝΤΑΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ. ΣΕ ΔΥΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΛΟΙΠΟΝ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ, ΜΙΑ *IN VITRO* ΚΑΙ ΜΙΑ *IN VIVO*, ΤΑ ΔΥΟ ΒΙΟΜΟΡΙΑ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΟΤΑΝ ΣΥΝΕΥΡΕΘΟΥΝ. ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΛΟΓΟΣ ΝΑ ΜΗΝ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΤΟ ΙΔΙΟ ΚΑΙ *IN PLANTA*, ΔΗΛΑΔΗ ΣΤΟΝ ΤΟΠΟ ΤΗΣ ΚΟΙΝΗΣ ΤΟΥΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ, ΤΟ ΦΥΤΟ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ.

ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ Η Χ1 ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΜΟΝΟ ΣΕ ΙΟΕΙΔΗ (PSTVD, HSVD) ΚΑΙ ΟΧΙ ΣΕ ΟΠΟΙΟΔΗΠΟΤΕ RNA (ΟΠΩΣ ΤΟ IRE RNA). ΟΥΤΕ ΟΜΩΣ ΚΑΙ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ PSTVD ΚΑΙ HSVD ΠΡΟΣΔΕΝΟΥΝ ΚΑΘΕ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΠΟΥ ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΣΕ RNA (ΟΠΩΣ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ IRP). Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ RNA ΕΙΝΑΙ ΙΣΧΥΡΟΤΕΡΗ ΑΠΟ ΑΛΛΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕ ΤΟ ΒΙΟΜΟΡΙΑΚΟ ΤΟΥΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ, ΩΣΤΕ ΤΑ ΔΥΟ ΜΟΡΙΑ ΝΑ ΜΗΝ ΑΝΑΛΩΝΟΝΤΑΙ ΣΕ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΠΟΥ ΔΕΝ ΕΧΟΥΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ. Η ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΜΙΑΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΣΕ ΕΝΑ RNA ΕΠΙΤΥΓΧΑΝΕΤΑΙ ΧΑΡΗ ΣΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΠΡΩΤΟΤΑΓΟΥΣ ΚΑΙ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΟΥΣ ΔΟΜΗΣ. ΤΕΤΟΙΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΖΗΤΗΘΗΚΑΝ ΣΤΑ ΙΟΕΙΔΗ PSTVD ΚΑΙ HSVD.

ΙΣ.3 Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ AGG/CCUUC ΚΑΙ Η ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1

Η ΕΙΔΙΚΗ ΔΟΜΗ ΠΟΥ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΖΕΙ ΟΛΑ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ, Η ΔΙΑΚΟΠΤΟΜΕΝΗ ΔΙΠΛΗ RNA ΕΛΙΚΑ, ΔΕΝ ΕΞΑΣΦΑΛΙΖΕΙ ΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ Χ1. Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΔΕΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΟΠΟΙΟΔΗΠΟΤΕ ΤΜΗΜΑ ΕΝΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ, ΔΕΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΚΑΝ ΜΕ ΟΛΑ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ.

Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ AGG/CCUUC ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΖΕΙ ΤΗΝ ΘΕΣΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΗΣ Χ1 ΣΤΑ ΙΟΕΙΔΗ PSTVD ΚΑΙ HSVD

ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ PSTVD ΚΑΙ HSVD ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΜΙΚΡΟΤΕΡΗ ΟΜΟΛΟΓΙΑ (35–44%) ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΤΟΥ PSTVD. Η ΠΛΕΟΝ ΟΜΟΛΟΓΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ ΕΙΝΑΙ Η ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΗΣ ΠΑΘΟΓΟΝΙΚΟΤΗΤΑΣ (58%) ΕΝΩ ΔΕΥΤΕΡΗ ΕΡΧΕΤΑΙ Η ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΜΕ 35% (KEESE AND SYMONS 1985). Η ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΗ ΑΝΟΜΟΙΟΜΟΡΦΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ

ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΩΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΔΕΞΙΑ ΠΛΕΥΡΑ ΤΟΥΣ. ΣΤΟ ΗΣVD ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΤΑΙ Η ΙΔΙΑΙΤΕΡΟΤΗΤΑ ΟΤΙ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΓΙΝΕΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΣΕ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΚΑΙ ΣΕ ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ ΠΕΡΙΟΧΗ. ΕΤΣΙ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΚΑΝ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΕΙ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΟΜΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΩΝ ΣΕ ΑΥΤΗΝ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ (KEESE AND SYMONS 1985). ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΠΕΡΙΜΕΝΑΜΕ ΟΤΙ ΑΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΘΕΣΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΣΤΑ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΗ, ΑΥΤΗ ΘΑ ΗΤΑΝ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗΣ, Η ΕΣΤΩ ΣΤΗΝ ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΚΑΘΩΣ ΣΤΟ ΜΕΣΑΙΟ ΤΗΣ ΤΜΗΜΑ ΤΑ ΔΥΟ ΜΟΡΙΑ ΕΝΑΙ ΣΧΕΔΟΝ ΠΑΝΟΜΟΙΟΤΥΠΑ. ΟΜΩΣ ΑΠΟΔΕΙΧΤΗΚΕ ΟΤΙ ΚΑΙ ΣΤΑ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΗ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΣΤΟ ΔΕΞΙ ΤΟΥΣ ΜΕΡΟΣ.

ΤΟ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ PSTVD ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΑΡΚΕΤΟ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΓΙΣΤΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗ ΕΙΝΑΙ Η ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ. ΤΟ ΔΕΞΙ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΗΣVD ΠΟΥ ΜΑΣ ΔΙΝΕΙ ΠΡΟΣΔΕΣΗ ΞΕΚΙΝΑ ΑΠΟ ΕΚΕΙ ΠΟΥ ΤΕΛΕΙΩΝΕΙ Η ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΗ ΠΕΡΙΟΧΗ. Η ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ ΤΩΝ ΔΥΟ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΟΔΗΓΗΣΕ ΣΤΑ ΕΞΗΣ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: ΑΝ Η Χ1 ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΙ ΚΑΠΟΙΟ ΕΜΦΑΝΕΣ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΣΤΗΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΩΝ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΩΝ ΤΟΤΕ ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΙΣ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ ΤΟΥ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ AGG ΚΑΙ CCUUC. ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΤΟ ΜΟΝΟ ΑΞΙΟΣΗΜΕΙΩΤΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΟΜΟΙΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΟΤΑΓΟΥΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΔΕΞΙΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ PSTVD ΚΑΙ ΤΟΥ ΗΣVD, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΜΑΛΙΣΤΑ ΔΕΝ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΠΟΥΘΕΝΑ ΣΤΟ ΥΠΟΛΟΙΠΟ ΜΟΡΙΟ ΠΟΥ ΟΠΩΣ ΠΡΟΑΝΑΦΕΡΘΗΚΕ ΔΕΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ. ΑΝ ΟΝΤΩΣ Η Χ1 ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΙ ΤΗΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ AGG/CCUUC ΤΟΤΕ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΗΣ ΘΑ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΡΟΒΛΕΨΟΥΜΕ ΠΟΙΑ ΙΟΕΙΔΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ.

ΜΟΝΟ ΙΟΕΙΔΗ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΤΟ ΖΕΥΓΟΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ AGG/CCUUC ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1

ΕΚΤΟΣ ΑΠΟ ΤΑ PSTVD ΚΑΙ ΗΣVD ΕΙΝΑΙ ΓΝΩΣΤΑ ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ ΑΚΟΜΗ 10 ΜΗ ΑΥΤΟΚΑΤΑΛΥΤΙΚΑ ΙΟΕΙΔΗ. ΑΝΑΖΗΤΗΘΗΚΕ ΣΤΙΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ ΤΟΥΣ ΤΟ ΖΕΥΓΟΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ AGG/CCUUC. ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΝΟΨΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΣΧΗΜΑ ΙΣ.3.

ΣΕ ΟΛΑ ΤΑ ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΤΟΥ PSTVD ΠΛΗΝ ΕΝΟΣ, ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΤΟ CCUUC, ΣΤΑ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΑ ΔΥΟ ΦΟΡΕΣ, ΚΑΙ ΜΑΛΙΣΤΑ ΣΤΗΝ ΙΔΙΑ ΘΕΣΗ, ΣΤΟΝ ΔΕΞΙ ΚΑΤΩ ΚΛΑΔΟ ΤΗΣ ΕΛΙΚΑΣ. ΣΧΕΔΟΝ ΠΑΝΤΑ ΣΥΝΟΔΕΥΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ AGG ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΗ ΘΕΣΗ ΑΝΩ ΔΕΞΙΑ. ΑΝΤΙΘΕΤΩΣ, ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΤΟΥ ASSVD ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΠΟΥΘΕΝΑ ΣΤΟ ΜΟΡΙΟ ΤΟ CCUUC. Η ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ CCUUC ΕΙΝΑΙ ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΗ ΤΗΣ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΤΟΥ PSTVD.

ΣΤΟ HSVD ΚΑΙ ΣΤΟ PSTVD ΠΑΡΑΤΗΡΕΙΤΑΙ ΤΡΙΠΛΗ ΚΑΙ ΔΙΠΛΗ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΑ ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΤΟΥ AGG/CCUUC ΕΝΩ ΣΤΟ CEVD ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΣΥΝΗΘΩΣ (ΒΛ. ΠΑΡΑΚΑΤΩ, ΣΕΛ. 74) ΜΟΝΑΧΑ ΜΙΑ ΦΟΡΑ. ΟΠΩΣ ΠΡΟΑΝΑΦΕΡΘΗΚΕ Η ΕΝ ΛΟΓΩ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΔΕΝ ΥΠΑΡΕΙ ΟΥΤΕ ΣΤΟ ASSVD ΟΥΤΕ ΣΤΟ GYSVD. ΚΑΤΟΠΙΝ ΑΥΤΩΝ ΤΩΝ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΩΝ, ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΕΝΑ *IN VITRO* ΠΕΙΡΑΜΑ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1 ΣΤΑ ΠΕΝΤΕ ΑΥΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΠΟΥ ΗΤΑΝ ΔΙΑΘΕΣΙΜΑ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ. ΤΑ PSTVD ΚΑΙ HSVD, ΠΟΥ ΗΔΗ ΓΝΩΡΙΖΑΜΕ ΟΤΙ ΠΡΟΣΔΕΝΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ, ΗΤΑΝ ΟΙ ΘΕΤΙΚΟΙ ΜΑΡΤΥΡΕΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ. ΤΑ ΥΠΟΛΟΙΠΑ ΤΡΙΑ ΙΟΕΙΔΗ ΕΔΩΞΑΝ ΤΟ ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΟ, ΑΠΟ ΑΥΤΑ ΠΟΥ ΠΡΟΑΝΑΦΕΡΘΗΚΑΝ, ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ. ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΤΟ CEVD, ΟΧΙ ΟΜΩΣ ΤΑ ASSVD ΚΑΙ GYSVD (MARTINEZ Ε, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ). ΔΗΛΑΔΗ, ΜΟΝΟ ΙΟΕΙΔΗ ΠΟΥ ΔΙΑΘΕΤΟΥΝ ΤΟ ΖΕΥΓΟΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ AGG/CCUUC ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1.

Οι δομικές προϋποθέσεις της προσδεσης

Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΔΕΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΙ ΤΟ ΖΕΥΓΟΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ AGG/CCUUC ΑΔΙΑΦΟΡΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗ ΤΟΥ ΔΟΜΗ. ΤΟ ΓΕΓΟΝΟΣ ΟΤΙ ΟΙ ΔΥΟ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ ΤΟΥ PSTVD ΕΧΟΥΝ ΤΗΝ ΙΔΙΑ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗ ΔΟΜΗ (ΣΧΗΜΑ 126.B) ΥΠΟΔΕΙΚΝΥΕΙ ΟΤΙ ΑΥΤΗ ΕΧΕΙ ΣΗΜΑΣΙΑ. ΑΥΤΟ ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ ΤΟΥ R34. ΕΙΔΑΜΕ ΟΤΙ ΟΤΑΝ ΔΙΑΤΑΡΑΧΘΕΙ ΣΤΟΝ ΔΕΞΙΟ ΒΡΑΧΙΟΝΑ ΤΟ ΖΕΥΓΑΡΩΜΑ ΤΟΥ AGG ΜΕ ΤΟ CCU (ΣΧΗΜΑ 13.3B ΣΕΛ. 62), Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΤΗΝ Χ1 ΧΑΝΕΤΑΙ (ΕΙΚΟΝΑ 13.4 ΣΕΛ. 64 ΚΑΙ ΠΙΝΑΚΑΣ 13.5 ΣΕΛ. 67). ΕΠΟΜΕΝΩΣ, Η ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗΣ ΔΟΜΗ ΕΙΝΑΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΟΥ RNA ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ. ΩΣΤΟΣΟ, Η ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗΣ ΔΟΜΗ ΔΕΝ ΠΡΟΣΦΕΡΕΙ ΤΗΝ

ΜΟΝΑΔΙΚΗ ΛΥΣΗ ΣΤΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΤΗΣ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗΣ ΑΠΟ ΤΗΝ Χ1. ΤΟ ΗSVΔ ΕΧΕΙ ΒΡΕΙ ΜΙΑ ΑΛΛΗ Η ΚΑΠΟΙΕΣ ΑΛΛΕΣ. ΕΙΝΑΙ ΟΜΩΣ ΔΥΣΚΟΛΟ ΝΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΟΥΝ ΑΜΕΣΑ ΚΑΘΩΣ ΔΕΝ ΒΓΑΙΝΕΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΚΡΙΒΗ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗ ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΩΝ ΤΟΥ ΗSVΔ (ΣΧΗΜΑ 12.6Γ). ΘΥΜΙΖΟΥΜΕ ΟΤΙ ΟΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ AGG ΚΑΙ CCUUC ΠΛΑΙΣΙΩΝΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΕΥΡΥΤΕΡΕΣ ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΕΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ (ΣΧΗΜΑ 12.6Α). ΤΑ ΠΛΑΙΣΙΑ ΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΣΤΟ ΗSVΔ ΑΠΟ ΟΤΙ ΣΤΟ ΡSTVD, ΚΑΙ ΜΑΛΛΟΝ ΕΙΝΑΙ ΚΑΘΟΡΙΣΤΙΚΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗ ΔΟΜΗ ΠΟΥ ΘΑ ΑΠΟΚΤΗΣΕΙ ΤΟ AGG/CCUUC ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΠΛΑΙΣΙΩΝΟΥΝ.

ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΛΟΙΠΟΝ ΟΤΙ ΣΤΟ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΗ ΕΧΟΥΝ ΔΙΑΜΟΡΦΩΘΕΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΘΕΣΕΙΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟΝ ΑΝΑΓΚΑΙΟ ΠΥΡΗΝΑ AGG/CCUUC. Η ΕΚΑΣΤΟΤΕ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΙΜΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗΣ ΔΟΜΗ ΤΟΥ AGG/CCUUC ΚΑΘΟΡΙΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΙΣ ΓΕΙΤΟΝΙΚΕΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ. ΠΙΘΑΝΟΤΑΤΑ ΤΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΝΑ ΣΥΜΜΕΤΕΧΕΙ ΚΑΙ ΑΥΤΟ ΑΜΕΣΑ ΣΤΗΝ ΠΡΟΣΔΕΣΗ. ΜΑΛΙΣΤΑ ΔΕΝ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΕΙ ΤΟ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΟ ΣΤΟ ΗSVΔ ΤΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΝΑ ΕΠΙΤΡΕΠΕΙ ΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΟΥ AGG/CCUUC ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΧΩΡΙΣ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟΣ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΥΤΗ Ο ΑΥΣΤΗΡΟΣ ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΟΥΣ ΤΟΥ ΔΟΜΗΣ.

ΓΙΑΤΙ ΟΜΩΣ ΔΥΟ (Η ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΕΣ) ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΘΕΣΕΙΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ; ΑΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΚΑΠΟΙΑ ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΙΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΓΙΑ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΟΥ RNA, ΙΣΩΣ ΝΑ ΜΗΝ ΥΠΗΡΞΕ ΛΟΓΟΣ ΤΑ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΗ ΝΑ ΒΡΟΥΝΕ ΟΠΩΣΔΗΠΟΤΕ ΤΗΝ ΙΔΙΑ ΛΥΣΗ ΣΕ ΕΝΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΕΣ ΑΠΟ ΜΙΑ. ΑΝ ΟΜΩΣ Η ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΗ ΛΥΣΗ ΔΕΝ ΒΡΕΘΗΚΕ ΤΥΧΑΙΑ, Η ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΗΣ ΙΣΩΣ ΝΑ ΠΕΡΙΟΡΙΟΡΙΣΤΗΚΕ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΝΑΓΚΗ ΤΗΣ ΔΟΜΙΚΗΣ Η/ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗΣ ΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΤΟ ΥΠΟΛΟΙΠΟ ΜΟΡΙΟ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΠΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΙ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟ ΡSTVD ΚΑΙ ΤΟ ΗSVΔ. ΠΡΟΠΑΝΤΟΣ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΞΕΧΝΑΜΕ ΟΤΙ ΤΑ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΗ ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ. Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΤΟΜΑΤΙΑ (SOLANACEAE), ΕΝΑΝ ΠΟΛΥ ΚΑΛΟ ΞΕΝΙΣΤΗ ΤΟΥ ΡSTVD ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΦΙΛΟΞΕΝΗΣΕΙ ΚΑΙ ΤΟ ΗSVΔ. ΩΣΤΟΣΟ, Η ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΗSVΔ ΣΤΗΝ ΤΟΜΑΤΙΑ ΕΙΝΑΙ ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΑ ΧΑΜΗΛΗ. ΚΑΛΟΣ ΞΕΝΙΣΤΗΣ ΓΙΑ ΤΟ ΗSVΔ ΕΙΝΑΙ Η ΚΟΛΟΚΥΘΙΑ ΚΑΙ ΓΕΝΙΚΟΤΕΡΑ ΤΑ CURCUBITACEAE. ΤΟ ΓΕΓΟΝΟΣ ΟΤΙ ΤΟ ΗSVΔ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ Χ1 ΤΗΣ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ, ΠΡΟΦΑΝΩΣ ΣΗΜΑΙΝΕΙ ΟΤΙ ΣΤΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥ ΗSVΔ ΥΠΑΡΧΕΙ ΚΑΠΟΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΑΝΑΛΟΓΗ

ΤΗΣ Χ1 ΠΟΥ ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΣΤΟ ΗΣVD. ΩΣΤΟΣΟ, ΤΟ ΗΣVD ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΟΤΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ Χ1 ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ ΚΑΤΑ ΜΙΑ ΤΑΞΗ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΣΤΕΡΑ ΑΠΟ ΟΤΙ ΤΟ ΡSΤVD. ΟΙ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΑΝΑΛΟΓΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΤΩΝ CURCUBITACEAE ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΓΙΣΤΗ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΟΥ AGG/CCUUC ΕΝΔΕΧΕΤΑΙ ΝΑ ΔΙΑΦΕΡΟΥΝ ΑΠΟ ΑΥΤΕΣ ΤΗΣ Χ1 ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ. Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΟΥ ΗΣVD ΕΙΝΑΙ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΓΙΑ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΤΩΝ ΞΕΝΙΣΤΩΝ ΤΟΥ ΚΑΙ ΟΧΙ ΓΙΑ ΤΗΝ Χ1 ΤΗΣ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ.

ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΡSΤVD ΚΑΙ ΗΣVD ΑΠΟΤΕΛΟΥΝ ΔΥΟ ΠΟΛΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΤΟΥ ΡSΤVD ΜΕ ΠΟΛΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ ΞΕΝΙΣΤΩΝ. ΑΣ ΔΟΥΜΕ ΟΜΩΣ ΠΩΣ ΕΙΝΑΙ ΔΙΑΜΟΡΦΩΜΕΝΗ Η ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΩΝ ΥΠΟΛΟΙΠΩΝ ΜΕΛΩΝ ΚΑΙ ΤΙ ΑΥΤΟ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΣΗΜΑΙΝΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ Η ΑΠΟ ΤΗΝ “Χ1”ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΝ ΞΕΝΙΣΤΩΝ.

Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ AGG/CCUUC ΣΤΑ ΥΠΟΛΟΙΠΑ ΙΟΕΙΔΗ ΚΑΙ Η Χ1 ΣΤΟ ΒΑΣΙΛΕΙΟ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ

ΣΥΓΚΡΙΘΗΚΑΝ ΟΙ ΠΡΩΤΟΤΑΓΕΙΣ ΚΑΙ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΕΙΣ ΔΟΜΕΣ ΤΗΣ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΕΝΝΕΑ ΙΟΕΙΔΩΝ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΤΟΥ ΡSΤVD. ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ 3 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ:

- Η ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΤΟΥ ΡSΤVD (ΣΧΗΜΑ ΙΣ.3Α)

ΑΠΟ ΤΑ ΕΞΙ ΙΟΕΙΔΗ ΠΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ, ΤΑ ΤΕΣΣΕΡΑ (ΤΟ ΡSΤVD, ΤΟ ΤΡMVD, ΤΟ ΤΑΣVD ΚΑΙ ΤΟ CSVD) ΕΧΟΥΝ ΜΙΚΡΟΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΘΕΣΕΙΣ, ΟΧΙ ΟΜΩΣ ΣΤΙΣ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ ΤΟΥ ΔΟΜΙΚΟΥ ΣΤΟΙΧΕΙΟΥ, ΠΟΥ ΠΑΡΑΜΕΝΕΙ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΟ. ΤΑ ΥΠΟΛΟΙΠΑ ΔΥΟ ΜΕΛΗ, ΤΟ CEVD ΚΑΙ ΤΟ IRVD, ΕΙΝΑΙ ΠΟΛΥ ΟΜΟΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΤΟΣΟ ΜΕ ΤΑ ΤΕΣΣΕΡΑ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΑ. ΑΥΤΟ ΠΟΥ ΚΥΡΙΩΣ ΤΑ ΔΙΑΧΩΡΙΖΕΙ ΑΠΟ ΤΑ ΥΠΟΛΟΙΠΑ ΕΙΝΑΙ Η ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΟΥ ΔΟΜΙΚΟΥ ΣΤΟΙΧΕΙΟΥ ΜΟΝΑΧΑ ΜΙΑ ΦΟΡΑ. ΜΠΟΡΟΥΜΕ ΝΑ ΠΟΥΜΕ ΟΤΙ ΤΟ ΡSΤVD ΚΑΙ ΤΟ CEVD ΕΙΝΑΙ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΤΙΚΑ ΤΩΝ ΥΠΟΛΟΙΠΩΝ ΜΕΛΩΝ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑΣ ΚΑΙ ΑΦΟΥ, ΟΠΩΣ ΠΡΟΑΝΑΦΕΡΘΗΚΕ, ΑΥΤΑ ΤΑ ΔΥΟ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1, ΕΙΝΑΙ ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΟ ΟΤΙ ΤΟ ΙΔΙΟ ΘΑ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΚΑΙ ΣΤΑ ΥΠΟΛΟΙΠΑ ΤΕΣΣΕΡΑ ΙΟΕΙΔΗ. ΚΑΙ ΤΑ ΕΞΙ ΙΟΕΙΔΗ ΜΟΛΥΝΟΥΝ ΤΗΝ ΤΟΜΑΤΙΑ, ΑΠΟ ΟΠΟΥ ΠΡΟΕΡΧΕΤΑΙ Η Χ1. ΤΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΞΕΝΙΣΤΩΝ

ΤΩΝ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΠΡΩΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΑΥΤΗΣ ΤΗΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑΣ (PSTVD, TASVD, TPMVD, CSVD) ΑΛΛΗΛΟΕΠΙΚΑΛΥΠΤΟΝΤΑΙ ΣΕ ΜΕΓΑΛΟ ΒΑΘΜΟ, ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΝΤΑΣ ΕΙΔΗ ΚΥΡΙΩΣ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΗΝ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ SOLANACEAE ΟΠΟΥ ΑΝΗΚΕΙ ΚΑΙ Η ΤΟΜΑΤΙΑ (SOLANACEAE, SCROPHULARIALES, ASTERIDEAE). ΤΟ ΧΡΥΣΑΝΘΕΜΟ (ASTERACEAE, ASTERALES, ASTERIDAE), ΟΠΟΥ ΑΝΑΚΑΛΥΦΘΗΚΕ ΤΟ CSVD, ΔΕΝ ΑΠΕΧΕΙ ΠΟΛΥ. ΤΟ CEVD ΟΜΩΣ ΕΧΕΙ ΤΟ ΠΛΟΥΣΙΟΤΕΡΟ ΦΑΣΜΑ ΞΕΝΙΣΤΩΝ ΑΦΟΥ ΕΚΤΟΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΤΟΜΑΤΙΑ ΜΟΛΥΝΕΙ ΑΚΟΜΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΓΓΟΥΡΙΑ (CURCUBITACEAE, CURCUBITALES, DILLENIDAE) ΚΑΙ ΤΑ ΕΣΠΕΡΙΔΟΕΙΔΗ (RUTACEAE, GERANIALES, ROSIDAE) ΚΑΙ ΠΡΟΦΑΝΩΣ ΣΥΝΑΝΤΑ ΕΚΕΙ ΚΑΠΟΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΑΝΑΛΟΓΗ ΜΕ ΤΗΝ ΤΗΝ Χ1.

- Η ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΤΟΥ CCCVD (ΣΧΗΜΑ ΙΣ.3Β)

ΕΚΤΟΣ ΑΠΟ ΤΟ CCCVD, ΣΤΗΝ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΑΥΤΗ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ ΚΑΙ ΤΟ CTIVD. ΤΑ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΥΝ ΜΕΓΑΛΗ ΟΜΟΛΟΓΙΑ ΣΕ ΟΛΗ ΤΟΥΣ ΤΗΝ ΕΚΤΑΣΗ. ΕΔΩ ΘΑ ΜΠΟΡΟΥΣΕ ΝΑ ΜΙΛΗΣΕΙ ΚΑΝΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΟΥ ΔΟΜΙΚΟΥ ΣΤΟΙΧΕΙΟΥ ΤΟΥ PSTVD ΣΕ ΕΚΦΥΛΙΣΜΕΝΗ Η ΠΑΡΑΛΛΑΓΜΕΝΗ ΜΟΡΦΗ. ΤΟ CCUUC ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΣΤΟΝ ΚΑΤΩ ΚΛΑΔΟ, ΟΜΩΣ ΜΟΝΑΧΑ ΜΙΑ ΦΟΡΑ (ΣΥΝΗΘΩΣ, ΒΛΕΠΕ ΠΑΡΑΚΑΤΩ). ΣΤΟΝ ΑΝΩ ΚΛΑΔΟ, ΣΤΗ ΘΕΣΗ ΤΟΥ AGG ΥΠΑΡΧΕΙ ΜΟΝΟ ΤΟ GG, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΟΜΩΣ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΖΕΥΓΗ ΜΕ ΤΟ CC ΟΠΩΣ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΚΑΙ ΣΤΟ ΔΟΜΙΚΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΤΟΥ PSTVD. ΣΤΟΝ ΚΑΤΩ ΚΛΑΔΟ ΥΠΑΡΧΕΙ ΜΙΑ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ CUUC, Η ΟΠΟΙΑ ΕΧΕΙ ΤΗΝ ΙΔΙΑ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΗ ΔΟΜΗ ΜΕ ΤΟ CUUC ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ CCUUC. ΔΕΝ ΜΠΟΡΟΥΜΕ ΟΜΩΣ ΝΑ ΕΚΤΙΜΗΣΟΥΜΕ ΑΝ ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΕΚΦΥΛΙΣΜΟ ΤΟΥ CCUUC ΚΑΙ ΝΑ ΠΡΟΒΛΕΨΟΥΜΕ ΤΗΝ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ. ΑΞΙΖΕΙ ΝΑ ΣΗΜΕΙΩΘΕΙ ΟΤΙ ΤΑ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΗ ΑΥΤΗΣ ΤΗΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑΣ ΠΡΟΣΒΑΛΛΟΥΝ ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΑ ΤΟΝ ΚΟΚΟΦΟΙΝΙΚΑ, Ο ΟΠΟΙΟΣ ΕΙΝΑΙ ΜΟΝΟΚΟΤΥΛΗΔΟΝΟ ΦΥΤΟ, ΣΕ ΑΝΤΙΘΕΣΗ ΜΕ ΤΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΩΝ ΥΠΟΛΟΙΠΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΠΟΥ ΑΝΗΚΟΥΝ ΣΤΑ ΔΙΚΟΤΥΛΗΔΟΝΑ. ΔΕΝ ΜΠΟΡΟΥΜΕ ΝΑ ΠΡΟΒΛΕΨΟΥΜΕ ΑΝ Η Χ1 ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΙ ΤΑ CCCVD ΚΑΙ CTIVD ΤΟΥ ΚΟΚΟΦΟΙΝΙΚΑ, ΕΞΑΛΛΟΥ ΣΕ ΑΥΤΗ ΤΗ ΦΑΣΗ ΔΕΝ ΕΧΕΙ ΙΔΙΑΙΤΕΡΗ ΣΗΜΑΣΙΑ, ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ ΑΠΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΠΟΨΗ. ΑΥΤΟ ΟΜΩΣ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΡΟΒΛΕΨΟΥΜΕ ΕΙΝΑΙ ΟΤΙ ΥΠΑΡΧΕΙ ΣΤΟΝ ΚΟΚΟΦΟΙΝΙΚΑ ΚΑΠΟΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΠΟΥ, ΟΠΩΣ Η Χ1 ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ, ΑΠΑΙΤΕΙ ΤΗΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ CUUC ΓΙΑ ΝΑ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΕΙ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ, ΠΡΟΦΑΝΩΣ ΓΙΑ ΝΑ ΕΞΥΠΗΡΕΤΗΣΕΙ ΤΗΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΗ ΜΕ ΤΗΝ Χ1 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ, ΟΠΟΙΑ ΚΑΙ ΑΝ ΕΙΝΑΙ ΑΥΤΗ.

- Η ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΤΟΥ ΗSVΔ (ΙΣ.3Γ)

ΔΕΝ ΕΧΕΙ ΒΡΕΘΕΙ ΑΛΛΟ ΜΕΛΟΣ. Η ΔΟΜΗ ΕΔΩ ΕΙΝΑΙ ΑΒΕΒΑΙΗ ΚΑΙ ΕΧΕΙ ΗΔΗ ΣΧΟΛΙΑΣΤΕΙ. ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΑΥΤΟ ΕΧΕΙ ΕΝΑ ΠΛΟΥΣΙΟ ΦΑΣΜΑ ΞΕΝΙΣΤΩΝ, ΑΦΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΕΙΔΗ ΠΟΥ ΑΝΗΚΟΥΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΤΑΞΕΙΣ. ΕΛΑΧΙΣΤΑ ΑΛΛΗΛΟΕΠΙΚΑΛΥΠΤΕΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΦΑΣΜΑ ΞΕΝΙΣΤΩΝ ΤΟΥ ΡSTVD, ΟΜΩΣ ΑΛΛΗΛΟΕΠΙΚΑΛΥΠΤΕΤΑΙ ΜΕ ΤΟΥ CEVD. ΤΟ ΑΜΠΕΛΙ, Η ΚΟΛΟΚΥΘΙΑ, ΚΑΙ ΤΑ ΕΣΠΕΡΙΔΟΕΙΔΗ, ΕΙΝΑΙ ΚΑΠΟΙΟΙ ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥ ΗSVΔ ΕΝΩ ΤΑ ΔΥΟ ΤΕΛΕΥΤΑΙΑ ΑΠΟΤΕΛΟΥΝ ΟΠΩΣ ΠΡΟΑΝΑΦΕΡΘΗΚΕ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΚΑΙ ΤΟΥ CEVD. ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΟΠΟΙΑ ΜΟΡΦΗ ΚΑΙ ΑΝ ΕΧΕΙ Η Χ1 ΣΕ ΑΥΤΑ ΤΑ ΦΥΤΑ, ΘΑ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΙ ΚΑΙ ΑΥΤΗ, ΟΠΩΣ Η Χ1 ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ, ΚΑΙ ΤΑ ΔΥΟ ΙΟΕΙΔΗ.

Η ΤΑΣΗ ΓΙΑ ΕΠΑΝΑΛΗΨΗ ΤΟΥ CCUUC ΣΤΗ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ

ΑΠΟ ΤΑ ΠΑΡΑΠΑΝΩ ΕΙΝΑΙ ΦΑΝΕΡΟ ΟΤΙ ΣΤΑ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΑ ΙΟΕΙΔΗ Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ CCUUC ΥΠΑΡΧΕΙ ΕΙΣ ΔΙΠΛΟΥΝ, ΚΑΙ ΜΑΛΙΣΤΑ ΣΤΟ ΗSVΔ ΕΙΣ ΤΡΙΠΛΟΥΝ. ΜΟΝΑΧΑ ΣΤΑ ΙΟΕΙΔΗ CEVD ΚΑΙ CCCVD/CTIVD, Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΕΝΤΟΠΙΖΕΤΑΙ ΜΙΑ ΦΟΡΑ. ΕΙΝΑΙ ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΑ ΑΞΙΟΣΗΜΕΙΩΤΟ ΤΟ ΓΕΓΟΝΟΣ ΟΤΙ ΣΕ ΑΥΤΑ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ, ΚΑΙ ΜΟΝΟΝ ΣΕ ΑΥΤΑ, ΠΑΡΑΤΗΡΕΙΤΑΙ ΕΝΙΟΤΕ ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΞΩ ΔΕΞΙΑΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ (SEMANSIK ET AL 1993, HASELOFF ET AL 1982). ΜΕ ΑΥΤΟ ΤΟΝ ΤΡΟΠΟ Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ CCUUC ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΠΛΕΟΝ ΕΙΣ ΔΙΠΛΟΥΝ ΣΤΑ CEVD CCCVD/CTIVD, ΟΠΩΣ ΚΑΙ ΣΤΑ ΥΠΟΛΟΙΠΑ ΙΟΕΙΔΗ. ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΥΠΑΡΧΕΙ ΣΕ ΟΛΑ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΜΙΑ ΤΑΣΗ ΓΙΑ ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΤΟΥ CCUUC, ΠΙΘΑΝΩΣ ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΙΣΧΥΡΟΠΟΙΕΙΤΑΙ Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΤΟΥ ΟΠΟΙΟΥΔΗΠΟΤΕ ΞΕΝΙΣΤΗ.

	C	GUAAUU	CC	C	U	
CGA	AGGA		GGCC	GAAA	AGGGU	U
GCU	UCCU		GGGC	CUUU	UCCCA	U
	CCU	GU	UU	CCU		C

PSTVD

	C	UAAUC	CU	C	U	
CAGA	AGGAG		GGCC	GAAA	AGGGU	U
GUCU	UCCUU		GGGC	CUUU	UCCCA	U
	CCU	U	UU	CCU		C

TPMVD

	C	UAAUC	CU	C	U	
UGAGA	AGGAG		CCAG	GAAA	AGGGU	U
GCUCU	UCCUU		GGUC	CUUU	UCCCA	U
	CCU	U	UU	CCU		C

TASVD

	C	UAAUC	CU	C	U	
GAGA	AGGAG		CUAAA	AGGGU	U	
CUCU	UCCUU		GAUUU	UCCCA	U	
	CCU	U	CCU			C

CSVD

	A	C	CU	
CCAGCGG	GAAA		AGGAG	C
GGUCGUC	CUUU		UCCUC	G
	G	CCU		U

CEVD

	A	C	CU	
GGCGG	AGAAA		AGGAG	C
CCGCU	UCUUU		UCCUC	G

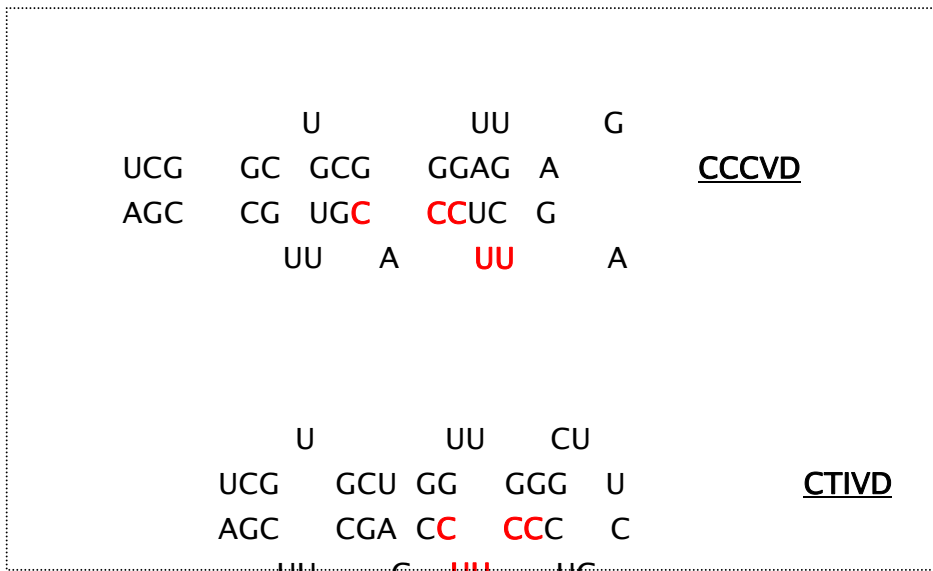
IRVD

G CCU A

ΣΧΗΜΑ ΙΣ.3α

Η κατηγορία του PSTVd και του CEVd.

Με μικρούς χαρακτήρες σημειώνονται οι διαφορές από την αλληλουχία του κυρίου μέλους της κάθε υποκατηγορίας. Το δομικό στοιχείο είναι σκιασμένο.



ΣΧΗΜΑ ΙΣ.3β

Η κατηγορία του CCCVd.

Με μικρούς χαρακτήρες σημειώνονται οι διαφορές από την αλληλουχία του κυρίου μέλους της κάθε υποκατηγορίας.

C CC G UC A A U

GAGAGG GUGGAGA GAGGG GCGGU C UGG GU GAGGC
 UUUCUUC CAUUUCU CUUCC UGCUA G ACC CA C UCCG C
 U C CU A AAG U U

H

HSVD

C CC GCUC A A U
 GAGAGG GUGGAGAG AGGG GCGGU UGG GU GAGGC
 UUUCUUC CAUUUCU UCC UGCUA ACC CA UCCG C
 CU GCU A AAGC U

ΣΧΗΜΑ ΙΣ.3γ

Η κατηγορία του HSvd, δηλ. το HSvd.

ΙΣ.4 Η ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ Χ1 ΣΤΑ ΙΟΕΙΔΗ

Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ PSTVD ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΕΙΝΑΙ ΠΡΟΥΠΟΘΕΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΗ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΣΤΗΝ ΤΟΜΑΤΙΑ

ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΠΩΣ Η Χ1 ΕΙΝΑΙ ΔΙΑΔΕΔΟΜΕΝΗ ΣΤΟ ΦΥΤΙΚΟ ΒΑΣΙΛΕΙΟ ΚΑΙ ΕΥΡΕΙΑΣ ΑΠΟΔΟΧΗΣ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΙΟΕΙΔΗ. ΜΙΑ ΤΟΣΟ ΔΗΜΟΦΙΛΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΑΝΑΜΕΝΕΤΑΙ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΙΑΙΩΝΙΣΗ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΜΕΝΕΙ ΝΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΕΙ Η ΑΙΤΙΑ. Η ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΔΙΝΕΤΑΙ ΑΝ ΚΑΤΑΣΤΡΑΦΕΙ Η ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΕΝΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΝΑ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΚΑΙ ΕΞΕΤΑΣΤΟΥΝ ΟΙ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΖΩΗ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ. ΑΥΤΟ ΣΥΝΕΒΗ ΜΕ ΤΙΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ PSTVD ΠΟΥ ΜΕΛΕΤΗΘΗΚΑΝ ΣΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΥ ΜΕΡΟΥΣ. ΕΚΕΙ ΔΙΑΠΙΣΤΩΘΗΚΕ ΟΤΙ ΤΟ ΚΑΘΕ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ ΤΟΥ R34 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΒΑΘΜΟ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ. Η ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ *IN PLANTA* ΤΩΝ ΕΝ ΛΟΓΩ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ ΤΟΥ PSTVD ΗΤΑΝ ΕΚ ΤΩΝ ΠΡΟΤΕΡΩΝ ΓΝΩΣΤΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΕΤΑΙ ΕΥΘΥΣ ΑΜΕΣΩΣ.

Η ενδοκυτταρική αντιγραφή και η διακυτταρική μετακίνηση ενός ιοειδούς είναι αλληλεπλληλά συμβαντα που είναι δύσκολο να διαχωριστούν σε ένα πείραμα μηχανικής επιμόλυνσης. Ωστόσο, η επιμόλυνση μέσω αγροβακτηρίου επιτρέπει την παρατήρηση της αντιγραφής ενός ιοειδούς ανεξαρτήτως από την μετακίνηση του. Συγκεκριμένα, φυτά τοματικής μολυνθήκαν, μέσω ενεσης στο βλαστό, με αγροβακτήριο μετασχηματισμένο με πλασμιδίο που περιέχει cDNA του PSTVd (Gardner et al 1986). Στα κυττάρα του ογκού που προκάλεσε το πλασμιδίο, το γραμμικό RNA του ιοειδούς μεταγραφεται συνεχώς και από τα γραμμικά ολιγομερή μεταγραφή ξεκινά ο κύκλος της αντιγραφής. Έτσι εμφανίζεται στον ογκό το κυκλικό ιοείδες αλλά και το dsRNA που είναι η ενδιαμεσική μορφή στη διαδικασία της αντιγραφής. Από τα κυττάρα του ογκού ξεκινά η συστηματική διασκορπίση του ιοειδούς με αποτέλεσμα την μόλυνση ολοκληρωμένου του φυτού.

Η μόλυνση με αγροβακτήριο που έφερε PSTVd αγριού τυπού είχε φυσικά ως αποτέλεσμα την παρουσία της κυκλικής μορφής σε ολοκληρωμένο το φυτό. Μια μεταλλαγή του αριστερού άκρου του μορίου, η οποία δεν ήταν μολυσματική σε προηγούμενο πείραμα μηχανικής επιμόλυνσης, δεν παρήγαγε κυκλικό RNA πουθενά στο φυτό, όπως εξάλλου αναμενόταν (Hammond 1994). Εντούτοις, μια άλλη μεταλλαγή, αυτή την φορά του δεξιού άκρου, που μηχανικά ήταν επίσης μη μολυσματική, παρουσίασε διαφορετική συμπεριφορά. Η κυκλική και η ds μορφή του PSTVd εμφανίστηκαν, μοναχά όμως στα κυττάρα του ογκού. Αυτό συνέβη σε όλα τα φυτά που μολυνθήκαν. Επομένως, η συγκεκριμένη μεταλλαγή επιτρέπει την αντιγραφή του PSTVd αλλά όχι την μετακίνηση του (Hammond 1994). Πρόκειται για την μεταλλαγή mut του R34 (Σχήμα 13.3β).

ΟΠΩΣ ΠΡΟΑΝΑΦΕΡΘΗΚΕ, Η ΚΥΚΛΙΚΗ ΚΑΙ Η DS ΜΟΡΦΗ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΑΝ ΣΤΟΝ ΟΓΚΟ ΣΕ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΝΤΟΜΑΤΙΕΣ ΠΟΥ ΜΟΛΥΝΘΗΚΑΝ. ΣΤΙΣ ΜΙΣΕΣ ΑΠΟ ΑΥΤΕΣ, PSTVD RNA ΔΕΝ ΕΜΦΑΝΙΣΤΗΚΕ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ ΑΛΛΟ ΜΕΡΟΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ. ΣΕ ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΦΥΤΑ ΩΣΤΟΣΟ, ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ ΙΟΕΙΔΕΣ ΣΤΗΝ ΡΙΖΑ ΕΝΩ ΣΕ ΕΛΑΧΙΣΤΑ ΤΟ PSTVD ΕΜΦΑΝΙΣΤΗΚΕ ΕΚΤΟΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΡΙΖΑ ΚΑΙ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ. ΠΟΙΟ PSTVD ΟΜΩΣ; ΟΤΑΝ ΤΑ ΜΟΡΙΑ ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΑΝ ΑΠΟ ΑΥΤΟΥΣ ΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΘΗΚΑΝ, ΔΙΑΠΙΣΤΩΘΗΚΕ ΟΤΙ Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΟΥ PSTVD ΕΙΧΕ ΑΛΛΑΞΕΙ. ΔΕΝ ΕΠΡΟΚΕΙΤΟ ΠΛΕΟΝ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ MUT ΠΟΥ ΕΙΧΕ ΕΙΣΑΧΘΕΙ ΣΤΑ ΦΥΤΑ, ΑΛΛΑ ΓΙΑ

ΔΥΟ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΤΟΥ ΑΝΑΣΤΡΟΦΕΣ. ΣΤΙΣ ΡΙΖΕΣ ΒΡΙΣΚΟΤΑΝ ΤΑ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΑ REV1 ΚΑΙ REV2 (ΣΧΗΜΑ 13.3B) ΕΝΩ ΣΤΑ ΦΥΛΛΑ ΜΟΝΑΧΑ ΤΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ REV1.

ΣΤΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΔΙΑΠΙΣΤΩΣΑΜΕ ΟΤΙ ΤΑ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΑ ΑΥΤΑ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΒΑΘΜΟ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1(ΕΙΚΟΝΑ 13.4). ΤΟ R34WT ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΙ ΤΗΝ ΜΕΓΙΣΤΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗ ΚΑΙ ΤΟ R34MUT ΤΗΝ ΕΛΑΧΙΣΤΗ. ΤΑ ΥΠΟΛΟΙΠΑ ΔΥΟ ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΕΝΔΙΑΜΕΣΟ, ΜΕ ΤΟ REV1 ΝΑ ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΚΑΛΥΤΕΡΑ ΑΠΟ ΤΟ REV2. ΣΥΓΚΡΙΝΟΝΤΑΣ ΑΥΤΑ ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕ ΤΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΤΗΣ HAMMOND ΓΙΝΕΤΑΙ ΦΑΝΕΡΟ ΟΤΙ Η ΙΣΧΥΣ ΤΗΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΤΟΥ ΚΑΘΕ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΣΥΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΝΑ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΖΕΤΑΙ ΣΤΟ ΦΥΤΟ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΙΑΣ. ΑΝ ΔΕΝ ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΣΥΜΠΤΩΣΗ, ΠΡΑΓΜΑ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΑ ΑΠΙΘΑΝΟ, ΤΟΤΕ Η ΕΠΙΤΥΧΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ PSTVD RNA ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ Χ1 ΕΙΝΑΙ ΚΑΘΟΡΙΣΤΙΚΗ ΓΙΑ ΤΟ ΚΑΤΑ ΠΟΣΟΝ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΘΑ ΕΙΝΑΙ ΣΕ ΘΕΣΗ ΝΑ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΤΕΙ ΣΤΗΝ ΤΟΜΑΤΙΑ.

ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΑΥΤΑ, ΤΟ ΚΥΡΙΟΤΕΡΟ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΕΙΝΑΙ ΟΤΙ Η ΠΡΟΣΔΕΣΗ ΤΟΥ PSTVD ΣΤΗΝ Χ1 ΕΙΝΑΙ ΠΡΟΥΠΟΘΕΣΗ ΓΙΑ ΤΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΤΟΥ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΗ ΣΤΗ ΝΤΟΜΑΤΙΑ. ΓΙΑ ΠΟΙΟΝ ΛΟΓΟ ΟΜΩΣ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙ ΤΗΝ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΠΡΩΤΕΙΝΗ; ΜΕ ΠΟΙΟΝ ΤΡΟΠΟ Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΤΗΝ Χ1 ΕΞΥΠΗΡΕΤΕΙ ΤΗΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΗ; ΣΕ ΑΥΤΗ ΤΗΝ ΦΑΣΗ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΑΠΑΝΤΗΘΕΙ ΑΥΤΟ ΤΟ ΕΡΩΤΗΜΑ. ΩΣΤΟΣΟ, ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΠΟΥ ΣΥΝΘΕΤΟΥΝ ΤΑ ΦΑΙΝΟΜΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗΣ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΗΣ, ΜΕ ΟΔΗΓΟ ΤΗΝ ΠΡΟΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΕΡΕΥΝΑ, ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΡΟΤΑΘΕΙ ΜΕ ΠΟΙΟ ΤΡΟΠΟ ΜΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ, ΟΠΩΣ Η Χ1, ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΕΞΥΠΗΡΕΤΕΙ ΤΗΝ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΗ ΕΝΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΣΤΟ ΦΥΤΟ.

ΙΣ.5 Η ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΗ ΚΑΙ Ο ΠΙΘΑΝΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ Χ1

Η σημασία της συστηματικής διασκορπίσης

ΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ RNA ΑΡΧΙΚΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΕΤΑΙ ΕΝΩ ΣΤΗΝ ΣΥΝΕΧΕΙΑ ΥΠΟΚΕΙΤΑΙ ΣΕ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ, ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΠΑΡΕΙ ΤΗΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΜΟΡΦΗ ΤΟΥ ΜΕ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΕΞΥΠΗΡΕΤΕΙ ΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ ΩΣΠΟΥ ΜΟΙΡΑΙΑ ΚΑΠΟΙΑ ΣΤΙΓΜΗ ΝΑ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΘΕΙ. ΕΞΑΣΦΑΛΙΖΕΙ ΤΗΝ ΔΙΑΙΩΝΙΣΗ ΤΟΥ ΕΜΜΕΣΑ, ΜΕ ΤΟ ΝΑ ΣΥΝΕΙΣΦΕΡΕΙ ΣΤΗΝ ΔΙΑΙΩΝΙΣΗ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΠΟΥ ΤΟ ΠΑΡΗΓΑΓΕ, ΩΣΤΕ ΑΥΤΟΣ ΝΑ ΔΙΑΤΗΡΗΣΕΙ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΣΤΟ ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟ. ΑΝΤΙΘΕΤΩΣ, ΤΟ RNA ΕΝΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΕΧΕΙ ΕΞΑΣΦΑΛΙΣΕΙ ΑΜΕΣΑ ΤΗ ΔΙΑΙΩΝΙΣΗ ΤΟΥ ΔΙΧΩΣ ΣΥΝΕΙΣΦΟΡΑ. ΟΙ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΒΡΑΧΥΚΥΚΛΩΝΟΝΤΑΙ, ΩΣΤΕ Η ΜΙΑ ΝΑ ΕΠΕΤΑΙ ΤΗΣ ΑΛΛΗΣ ΣΕ ΑΛΛΕΠΑΛΛΗΛΟΥΣ ΚΥΚΛΟΥΣ. ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ ΜΕΤΑΤΡΕΠΕΤΑΙ ΑΠΟ ΓΡΑΜΜΙΚΟ ΣΕ ΚΥΚΛΙΚΟ, ΕΤΣΙ ΩΣΤΕ ΝΑ ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΑΜΕΣΩΣ ΚΑΙ ΠΑΛΙ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ Κ.Ο.Κ. (BRANCH AND ROBERTSON 1984). ΣΥΣΣΩΡΕΥΟΝΤΑΙ ΕΤΣΙ ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΧΙΛΙΑΔΕΣ ΑΝΤΙΤΥΠΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΤΟ ΕΞΥΠΗΡΕΤΟΥΝ ΣΕ ΤΙΠΟΤΑ ΚΑΙ ΜΑΛΙΣΤΑ ΕΝΙΟΤΕ ΤΟ ΒΛΑΠΤΟΥΝ. ΣΕ ΑΥΤΗ ΤΗΝ ΦΑΣΗ ΚΑΠΟΙΑ ΜΟΡΙΑ ΑΠΟΣΥΝΔΕΟΥΝ ΤΗΝ ΤΥΧΗ ΤΟΥΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΤΥΧΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ ΠΟΥ ΤΑ ΠΑΡΗΓΑΓΕ, ΕΓΚΑΤΑΛΕΙΠΟΝΤΑΣ ΤΟ ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΜΕΤΑΝΑΣΤΕΥΣΟΥΝ ΣΕ ΕΝΑ ΑΛΛΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΚΑΙ ΝΑ ΕΓΚΑΙΝΙΑΣΟΥΝ ΕΚΕΙ ΕΝΑ ΝΕΟ ΚΥΚΛΟ Κ.Ο.Κ. ΟΤΑΝ ΜΑΛΙΣΤΑ ΤΟ ΕΠΟΜΕΝΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΑΝΗΚΕΙ ΣΕ ΑΛΛΟ ΦΥΤΟ, ΤΟΤΕ Η ΔΙΑΙΩΝΙΣΗ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟΝ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΟ ΞΕΝΙΣΤΗ ΤΟΥ.

Τα πλασμοδεσμάτα και η διακυτταρική μετακίνηση των μακρομορίων στα φυτά

ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΑΞΙΟΠΟΙΟΥΝ ΠΡΟΣ ΟΦΕΛΟΣ ΤΟΥΣ ΤΙΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ, ΠΡΟΦΑΝΩΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΩΝΤΑΣ ΜΕ ΚΑΤΑΛΛΗΛΑ ΒΙΟΜΟΡΙΑ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ, ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΟΥ RNA. ΠΟΛΥΑΡΙΘΜΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΚΑΙ RNA ΕΙΝΑΙ ΓΝΩΣΤΟ ΟΤΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΟΥΝ ΣΤΗΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ RNA. Η

ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΤΟΥ RNA ΑΠΟ ΚΑΙ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΕΙΝΑΙ ΕΠΙΣΗΣ ΑΡΚΕΤΑ ΜΕΛΕΤΗΜΕΝΗ. ΔΕΝ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΤΟ ΙΔΙΟ ΚΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΓΕΝΟΥΣ RNA ΣΤΑ ΦΥΤΑ. Η ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ Η ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ ΞΕΚΙΝΗΣΕ ΠΟΛΥ ΠΡΟΣΦΑΤΑ, ΚΑΙ ΣΕ ΕΛΑΧΙΣΤΕΣ ΦΥΤΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΕΧΕΙ ΑΠΟΔΟΘΕΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ RNA. ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΩΣΤΟΣΟ, ΕΧΕΙ ΕΡΕΥΝΗΘΕΙ ΕΚΤΕΝΩΣ Η ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΩΝ ΙΙΚΩΝ RNA ΑΠΟ ΤΙΣ ΙΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ.

ΕΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟ ΥΠΟΔΕΙΓΜΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΕΝΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΕΙΝΑΙ Η ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΙΩΝ (CARRINGTON ET AL 1996, GILBERTSON AND LUCKAS 1996). ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΑΥΤΟ, Η ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ ΜΕΣΑ ΣΕ ΕΝΑ ΦΥΤΟ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΕΙ ΣΕ ΔΥΟ ΦΑΣΕΙΣ ΠΟΥ ΕΝΑΛΛΑΣΣΟΝΤΑΙ, ΤΗΝ ΚΟΝΤΙΝΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΔΗΛ. ΑΠΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΟ ΚΑΙ ΤΗΝ ΜΑΚΡΙΝΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΔΗΛ. ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΦΛΟΙΩΜΑΤΟΣ.

ΑΦΟΥ Ο ΙΟΣ ΔΙΕΙΣΔΥΣΕΙ ΚΑΙ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΕΙ ΣΕ ΚΑΠΟΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΤΟΥ ΜΕΣΟΦΥΛΛΟΥ, ΠΡΕΠΕΙ ΣΤΗ ΣΥΝΕΧΕΙΑ ΝΑ ΔΙΑΣΧΙΣΕΙ ΚΥΤΤΑΡΟ ΠΡΟΣ ΚΥΤΤΑΡΟ ΟΡΙΣΜΕΝΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΣΤΟΙΒΑΔΕΣ ΩΣΠΟΥ ΝΑ ΦΤΑΣΕΙ ΣΤΑ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΦΛΟΙΩΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΟΠΟΥ ΘΑ ΕΞΕΛΘΕΙ ΣΤΟΝ ΗΘΜΩΔΗ ΣΩΛΗΝΑ. ΑΠΟ ΕΚΕΙ Η ΦΛΟΙΩΜΑΤΙΚΗ ΡΟΗ ΘΑ ΤΟ ΜΕΤΑΦΕΡΕΙ ΤΑΧΥΤΑΤΑ ΣΤΙΣ ΡΙΖΕΣ ΚΑΙ ΣΤΟ ΚΟΡΥΦΑΙΟ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑ. ΠΕΡΝΑΕΙ ΣΤΗΝ ΣΥΝΕΧΕΙΑ ΑΠΟ ΤΟ ΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΟ ΤΟΥ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑΤΟΣ ΣΤΟ ΑΛΛΟ. ΤΑ ΝΕΑ ΦΥΛΛΑ ΠΟΥ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΝΤΑΙ ΕΙΝΑΙ ΜΟΛΥΣΜΕΝΑ ΚΑΙ ΤΡΟΦΟΔΟΤΟΥΝ ΚΑΙ ΑΥΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΣΕΙΡΑ ΤΟΥΣ ΤΟΝ ΗΘΜΩΔΗ ΣΩΛΗΝΑ ΜΕ ΙΟΕΙΔΕΣ ΓΙΑ ΝΑ ΤΟ ΜΕΤΑΦΕΡΕΙ ΣΤΟ ΥΠΟΛΟΙΠΟ ΦΥΤΟ.

ΤΗΝ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑ ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΔΙΕΥΚΟΛΥΝΟΥΝ ΤΑ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝ ΠΟΛΛΟΙ ΙΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΙΑΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΤΟΥΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ (GHOSHROY ET AL 1997). ΕΠΕΙΔΗ ΕΝΑΣ ΒΑΣΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΩΝ ΕΙΝΑΙ ΝΑ ΕΠΙΤΡΕΠΟΥΝ ΤΗΝ ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΔΙΑΚΙΝΗΣΗ ΤΩΝ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ, ΤΑ ΚΑΝΑΛΙΑ ΤΟΥΣ ΕΧΟΥΝ ΤΟ ΚΑΤΑΛΛΗΛΟ ΜΕΓΕΘΟΣ, 1.5NM. ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ ΑΥΤΟ ΕΙΝΑΙ ΠΟΛΥ ΜΙΚΡΟ ΓΙΑ ΝΑ ΕΠΙΤΡΕΨΕΙ ΤΗΝ ΔΙΕΛΕΥΣΗ ΕΝΟΣ ΙΟΥ, ΟΜΩΣ Η ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΩΝ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΑΥΞΗΘΕΙ ΑΠΟ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΥΝ ΟΙ ΙΟΙ ΚΑΙ ΟΝΟΜΑΖΟΝΤΑΙ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ.

ΕΧΕΙ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΙ ΕΡΕΥΝΑ ΣΕ ΠΟΛΥΑΡΙΘΜΕΣ ΑΠΟ ΑΥΤΕΣ ΑΛΛΑ Η ΠΛΕΟΝ ΜΕΛΕΤΗΜΕΝΗ ΕΙΝΑΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ (P30) ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΟΥ ΜΩΣΑΙΚΟΥ ΤΟΥ ΚΑΠΝΟΥ (TMV). ΠΡΟΣΔΕΝΕΤΑΙ ΜΕ ΣΥΝΕΡΓΑΤΙΚΟ ΤΡΟΠΟ ΟΠΟΥΔΗΠΟΤΕ ΣΤΟ ΜΟΝΟΚΛΩΝΟ RNA ΤΟΥ ΙΟΥ, ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΝΤΑΣ ΕΝΑ ΔΙΑΤΕΤΑΜΕΝΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ ΠΟΥ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΔΙΕΙΣΔΥΣΕΙ ΣΤΟ ΚΑΝΑΛΙ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΩΝ. ΕΤΣΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΚΑΙ ΤΟ RNA ΠΕΡΝΟΥΝ ΣΤΟ ΔΙΠΛΑΝΟ ΚΥΤΤΑΡΟ. ΠΑΡΟΜΟΙΩΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΟΥΝ ΚΑΙ ΑΛΛΕΣ ΙΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ. Η ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΗΣ P30 ΠΕΡΙΟΡΙΖΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΟΥ ΙΟΥ ΣΤΟ ΜΕΣΟΦΥΛΛΟ. ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΞΟΔΟ ΣΤΟ ΦΛΟΙΩΜΑ ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΙΝΑΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΕΠΙΚΑΛΥΨΗΣ ΤΟΥ ΙΟΥ.

Η ΕΞΟΔΟΣ ΣΤΟΝ ΗΘΜΩΔΗ ΣΩΛΗΝΑ ΤΟΥ ΦΛΟΙΩΜΑΤΟΣ ΓΙΝΕΤΑΙ ΣΤΙΣ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΕΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΦΛΟΙΩΜΑΤΟΣ. ΤΑ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΑ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΥΝ ΤΑ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕ ΤΟΝ ΗΘΜΩΔΗ ΣΩΛΗΝΑ ΕΧΟΥΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΣΧΗΜΑ ΚΑΙ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΗ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΩΣΤΕ ΝΑ ΕΠΙΤΡΕΠΟΥΝ ΤΗΝ ΕΞΟΔΟ ΣΤΟΝ ΗΘΜΩΔΗ ΣΩΛΗΝΑ ΤΩΝ ΠΟΛΥΑΡΙΘΜΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΤΟΥ ΦΛΟΙΩΜΑΤΟΣ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΣΤΑ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (BALACHADRAN ET AL 1997, GOLECKI ET AL 1999). ΑΚΟΜΗ ΚΑΙ ΜΙΑ ΕΤΕΡΟΛΟΓΗ ΠΡΩΤΕΙΝΗ, Η GFP (GREEN FLUORESCENT PROTEIN, 27 KD) ΠΟΥ ΠΡΟΕΡΧΕΤΑΙ ΑΠΟ ΜΕΔΟΥΣΑ (*AQUARIA VICTORIA*), ΟΤΑΝ ΣΥΝΤΕΘΕΙ ΣΤΑ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *ARABIDOPSIS*, ΕΞΕΡΧΕΤΑΙ ΣΤΟΝ ΗΘΜΩΔΗ ΣΩΛΗΝΑ ΔΙΑ ΜΕΣΟΥ ΤΟΥ ΟΠΟΙΟΥ ΦΘΑΝΕΙ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ-ΑΠΟΘΗΚΕΣ ΟΠΩΣ ΤΙΣ ΡΙΖΕΣ ΚΑΙ ΤΑ ΑΝΑΠΤΥΣΟΜΕΝΑ ΦΥΛΛΑ (IMLAU ET AL 1999). ΠΑΡΟΜΟΙΩΣ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΚΑΠΝΟ ΟΠΟΥ ΚΑΤΟΠΙΝ ΒΟΜΒΑΡΔΙΣΜΟΥ ΕΝΟΣ ΦΥΛΛΟΥ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΠΑΡΑΤΗΡΕΙΤΑΙ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΕ ΓΕΙΤΟΝΙΚΑ ΦΥΛΛΑ (OPARKA ET AL 1999). ΚΑΙ ΕΝΩ Η ΜΑΚΡΟΜΟΡΙΑΚΗ ΕΞΟΔΟΣ ΑΠΟ ΤΑ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΡΟΣ ΣΤΟΝ ΗΘΜΩΔΗ ΣΩΛΗΝΑ ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΠΩΣ ΕΙΝΑΙ ΣΧΕΤΙΚΑ ΕΛΕΥΘΕΡΗ, ΔΕΝ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΤΟ ΙΔΙΟ ΜΕ ΤΟ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΟ ΒΗΜΑ ΤΗΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ ΔΗΛ, ΤΗΝ ΕΙΣΟΔΟ ΣΕ ΑΥΤΑ ΤΑ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ. ΟΛΙΓΑΡΙΘΜΑ Η/ΚΑΙ ΑΥΣΤΗΡΩΣ ΡΥΘΜΙΖΟΜΕΝΑ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΑ ΕΝΩΝΟΥΝ ΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΜΕΣΟΦΥΛΛΟΥ ΜΕ ΤΑ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΦΛΟΙΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΠΩΣ Η ΕΞΟΔΟΣ ΑΠΟ ΤΟ ΜΕΣΟΦΥΛΛΟ ΣΤΟ ΦΛΟΙΩΜΑ ΔΗΛ. ΤΟ ΠΕΡΑΣΜΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΟΝΤΙΝΗ ΣΤΗΝ ΜΑΚΡΙΝΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ, ΕΛΕΓΧΕΤΑΙ ΣΕ ΑΥΤΟ ΚΥΡΙΩΣ ΤΟ ΣΗΜΕΙΟ (OPARKA ET AL 1999, SANTA CRUZ 1999). ΕΙΝΑΙ ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΠΟΛΥ ΠΙΘΑΝΟ ΕΚΕΙ ΝΑ ΕΝΤΟΠΙΖΕΤΑΙ ΚΑΙ Η ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ

ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ/ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΩΝ ΤΗΣ *ARABIDOPSIS VSM1 (VIRUS SYSTEMIC MOVEMENT)* ΚΑΙ *RTM1 (RESTRICTED TEV MOVEMENT)*. ΣΤΑ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΑ ΦΥΤΑ Ο ΙΟΣ ΤΕV (TOBACCO ETCH VIRUS) ΔΕΝ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΠΕΡΑΣΕΙ ΑΠΟ ΤΟ ΜΕΣΟΦΥΛΛΟ ΣΤΟ ΦΛΟΙΩΜΑ, ΑΦΟΥ Η ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΤΟΥ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΗ ΕΜΠΟΔΙΖΕΤΑΙ, ΔΙΧΩΣ ΩΣΤΟΣΟ ΝΑ ΕΠΗΡΕΑΖΕΤΑΙ Η ΚΟΝΤΙΝΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΟΥ ΙΟΥ (LARTEY ET AL 1998, ΜΑΗΑJAN ET AL 1998).

ΑΝ ΠΡΑΓΜΑΤΙ Η ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΑΠΟ ΤΟ ΜΕΣΟΦΥΛΛΟ ΣΤΑ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΦΛΟΙΩΜΑΤΟΣ ΕΙΝΑΙ ΕΝΑ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ, ΤΟΤΕ ΕΙΝΑΙ ΚΑΙ ΤΟ ΠΟΙΟ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝ ΟΣΟΝ ΑΦΟΡΑ ΤΟ ΠΩΣ ΕΛΕΓΧΕΤΑΙ Η ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΣΤΑ ΦΥΤΑ. ΩΣΤΟΣΟ ΕΧΕΙ ΕΡΕΥΝΗΘΕΙ ΛΙΓΟΤΕΡΟ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΑΛΛΟ ΛΟΓΩ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΔΥΣΚΟΛΙΩΝ. ΑΝΤΙΘΕΤΑ Η ΜΑΚΡΟΜΟΡΙΑΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΜΕΣΟΦΥΛΛΟΥ ΕΙΧΕΙ ΜΕΛΕΤΗΘΕΙ ΕΚΤΕΝΩΣ, ΣΤΟ ΠΑΡΕΛΘΟΝ ΑΝΑΦΟΡΙΚΑ ΜΕ ΤΙΣ ΙΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΙΙΚΟΥ RNA ΚΑΙ ΠΟΛΥ ΠΡΟΣΦΑΤΑ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΠΡΩΤΗΣ ΕΝΔΟΓΕΝΟΥΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΠΟΥ ΒΡΕΘΗΚΕ ΝΑ ΜΕΤΑΦΕΡΕΙ RNA ΑΠΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΟ ΣΤΟ ΜΕΣΟΦΥΛΛΟ.

ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΚΝΟΤΤΕD 1 (KN1) ΤΟΥ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΟΥ, ΕΝΑΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ, ΠΟΥ ΔΙΑΠΕΡΝΑ ΤΑ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΜΕΣΟΦΥΛΛΟΥ, ΣΕ ΚΑΛΑΜΠΟΚΙ ΚΑΙ ΣΕ ΚΑΠΝΟ, ΜΕΤΑΦΕΡΟΝΤΑΣ ΜΑΖΙ ΚΑΙ ΤΟ ΚΝΟΤΤΕD 1 MRNA (LUCKAS ET AL 1995). Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΔΙΕΛΕΥΣΗΣ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΜΕΡΙΚΟ ΞΕΔΙΠΛΩΜΑ ΤΗΣ ΠΟΛΥΠΕΠΤΙΔΙΚΗΣ ΑΛΥΣΣΙΔΑΣ ΚΑΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΚΑΠΟΙΟΝ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΣΤΑ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΑ, Ο ΟΠΟΙΟΣ ΕΙΝΑΙ ΠΡΟΣ ΤΟ ΠΑΡΟΝ ΑΓΝΩΣΤΟΣ ΑΛΛΑ Ο ΙΔΙΟΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝ ΚΑΙ ΟΙ ΙΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ (KRALER ET AL 1998). ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΠΑΡΑΞΕΝΟ ΠΟΥ ΟΙ ΙΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ ΜΕ ΤΗΝ ΚΝΟΤΤΕD ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΓΙΑ ΝΑ ΜΕΤΑΦΕΡΟΥΝ ΤΟ RNA ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΤΟΥΣ ΜΕΣΑ ΑΠΟ ΤΑ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΑ. ΟΙ ΙΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΕΙΝΑΙ ΠΑΡΑΛΟΓΕΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ CMPP16 ΑΠΟ ΝΕΡΟΚΟΛΟΚΥΘΙΑ (*CUCURBITA MAXIMA*). ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΕΥΤΕΡΗ ΕΝΔΟΓΕΝΗ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΚΝΟΤΤΕD ΠΟΥ ΒΡΕΘΗΚΕ ΝΑ ΜΕΤΑΦΕΡΕΙ RNA ΑΠΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΟ (ΧΟΝΟCOSTLE-CAZARES ET AL 1999). ΑΥΤΗ ΜΑΛΙΣΤΑ ΠΕΡΝΑΕΙ ΚΑΙ ΣΤΟ ΦΛΟΙΩΜΑ ΜΕΤΑΦΕΡΟΝΤΑΣ ΜΑΖΙ ΤΟ CMPP16-1 RNA.

ΕΙΝΑΙ ΠΛΕΟΝ ΦΑΝΕΡΟ ΟΤΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΜΟΛΥΝΣΗ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ, ΟΙ ΙΟΙ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝ Η/ΚΑΙ ΜΙΜΟΥΝΤΑΙ ΕΝΑ ΕΝΔΟΓΕΝΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΚΑΙ RNA. ΕΙΝΑΙ ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΟ ΟΤΙ ΤΟ ΙΔΙΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝ ΚΑΙ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ. ΠΡΑΓΜΑΤΙ Η ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΤΟΥ PSTVD ΑΠΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΟ ΣΤΟ ΜΕΣΟΦΥΛΛΟ ΓΙΝΕΤΑΙ ΔΙΑΜΕΣΟΥ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΩΝ, ΩΣΤΟΣΟ, ΑΦΟΥ ΠΕΡΑΣΕΙ ΣΤΟ ΔΙΠΛΑΝΟ ΚΥΤΤΑΡΟ, ΤΟ PSTVD ΔΕΝ ΠΑΡΑΜΕΝΕΙ ΣΤΟ ΚΥΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ ΑΛΛΑ, ΟΠΩΣ ΕΞΑΛΛΟΥ ΑΝΑΜΕΝΟΤΑΝ, ΕΙΣΕΡΧΕΤΑΙ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ (DING ET AL 1997).

Η ενδοκυτταρική μετακίνηση των μακρομορίων από και προς τον πυρήνα μέσω του Συμπλεγματος του Πυρηνικού Πορού

ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΜΙΑΣ ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗΣ ΑΝΤΙΛΗΨΗΣ ΤΗΣ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΛΗΦΘΕΙ ΥΠ ΟΨΗΝ ΜΙΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΑ ΤΟΥΣ ΑΠΟ ΤΟΥΣ RNA ΙΟΥΣ. ΟΙ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟΙ RNA ΙΟΙ ΑΝΤΙΓΡΑΦΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΕΣ/ΡΕΠΛΙΚΑΣΕΣ ΤΟΥΣ, ΟΜΩΣ ΤΟ PSTVD ΑΝΤΙΓΡΑΦΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ RNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ II (RACKWITZ ET AL 1981), ΠΑΡΟΜΟΙΩΣ ΚΑΙ ΤΟ CEVD (FLORES ET AL 1982). ΕΠΟΜΕΝΩΣ, Η ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΕΝΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΤΗΝ ΦΑΣΗ ΕΞΟΔΟΥ/ΕΙΣΟΔΟΥ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ.

Η ΜΑΚΡΟΜΟΡΙΑΚΗ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΜΕ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΓΙΝΕΤΑΙ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΠΟΡΟΥ (NUCLEAR PORE COMPLEX, NPC). Η ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΕΙΝΑΙ ΓΝΩΣΤΗ ΚΑΙ ΕΚΤΙΜΑΤΑΙ ΟΤΙ ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ 50-100 ΔΙΑΚΡΙΤΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ, 30 ΑΠΟ ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΙΝΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΕΝΑ ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΚΑΙ ΟΝΟΜΑΖΟΝΤΑΙ ΝΟΥΚΛΕΟΠΟΡΙΝΕΣ (OHNO ET AL 1998). Η ΔΙΑΣΧΙΣΗ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΠΟΡΟΥ ΑΠΟ ΕΝΑ ΜΑΚΡΟΜΟΡΙΟ ΠΡΟΥΠΟΘΕΤΕΙ ΤΗΝ ΠΡΟΣΔΕΣΗ ΤΟΥ ΣΕ ΚΑΠΟΙΟΝ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΔΗΛ. ΣΕ ΚΑΠΟΙΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ IMPORTIN-B (IZZARUALDE AND ADAM 1998, OHNO ET AL 1998, MATTAJ AND ENGLMEIER 1988). Ο ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΩΝΤΑΣ ΜΕ ΤΙΣ ΝΟΥΚΛΕΟΠΟΡΙΝΕΣ ΠΕΡΝΑΕΙ ΜΕΣΑ ΑΠΟ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΙΚΟ ΠΟΡΟ ΣΥΜΠΑΡΑΣΥΡΟΝΤΑΣ ΤΟ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΤΟΥ. ΤΟ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑ ΥΠΟΔΟΧΕΑ-ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ

ΣΥΝΟΔΕΥΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ RAN. ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΜΙΑ ΓΤΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΠΟΙΑΣ Ο ΚΑΘΕ ΚΥΚΛΟΣ ΕΝΑΛΛΑΓΗΣ GTP/GDP ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΕΙ ΣΕ ΕΝΑ ΓΕΓΟΝΟΣ ΕΙΣΟΔΟΥ/ΕΞΟΔΟΥ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ.

Η ΔΙΕΛΕΥΣΗ ΔΙΑΜΕΣΟΥ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΠΟΡΟΥ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΗ ΚΑΙ ΓΙΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΑΜΕΣΑ ΜΕ ΚΑΠΟΙΟΝ ΥΠΟΔΟΧΕΑ, ΑΛΛΑ ΠΟΥ ΠΡΟΣΔΕΝΟΝΤΑΙ ΣΕ ΑΥΤΟΝ ΕΜΜΕΣΑ, ΜΕΣΩ ΚΑΠΟΙΟΥ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ (IZZARUALDE AND ADAM 1998, ΟΗΝΟ ET AL 1998, ΜΑΤΤΑΪ AND ENGLMEIER 1988). ΕΝΑΣ ΤΕΤΟΙΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΕΙΝΑΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ IMPORTIN-A Η ΟΠΟΙΑ ΕΙΝΑΙ ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΙΣΟΔΟ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΠΟΥ ΔΙΑΘΕΤΟΥΝ ΤΟ ΚΛΑΣΙΚΟ ΣΗΜΑ ΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΕΙΣΟΔΟΥ (NUCLEAR LOCALIZATION SIGNAL, NLS). Η IMPORTIN-A ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΟ NLS ΑΛΛΑ ΚΑΙ ΜΕ ΤΗΝ IMPORTIN-B, ΚΑΙ ΕΤΣΙ ΧΡΗΣΙΜΕΥΕΙ ΩΣ ΓΕΦΥΡΑ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΠΡΟΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΚΑΙ ΤΟΝ ΥΠΟΔΟΧΕΑ.

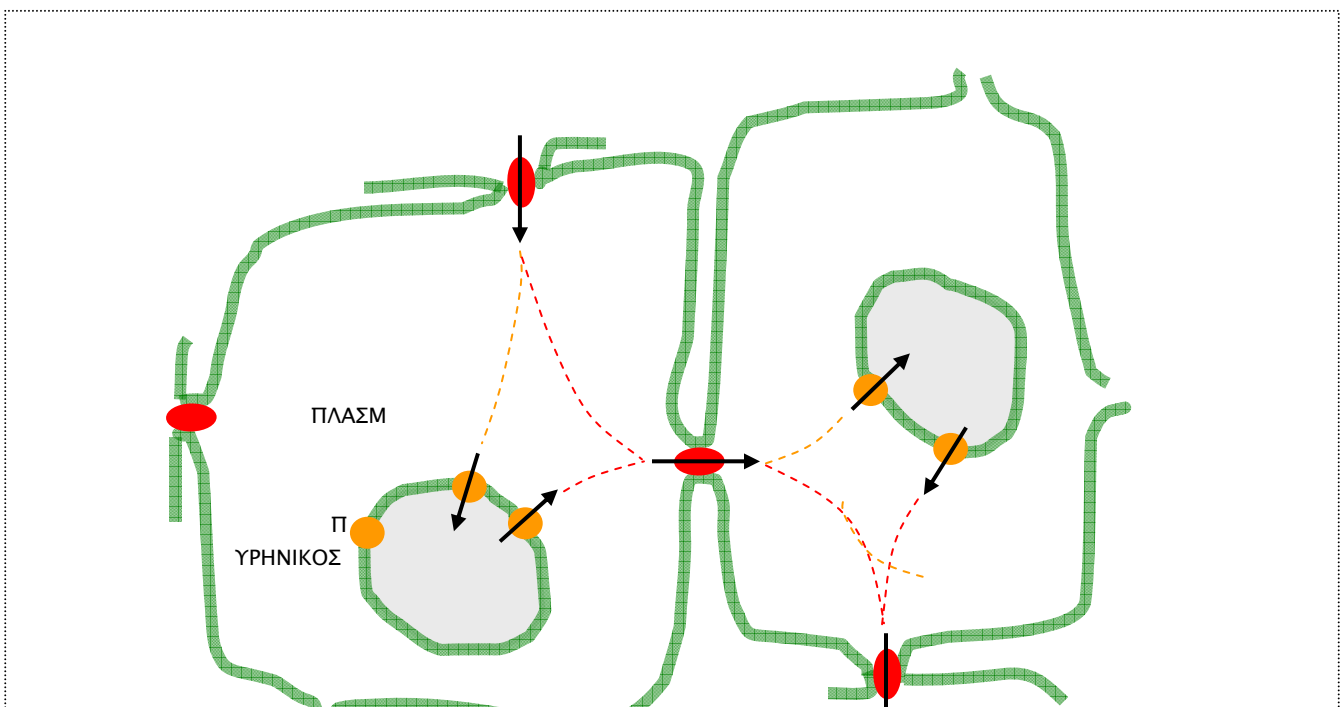
Η ΕΙΣΟΔΟΣ/ΕΞΟΔΟΣ ΕΝΟΣ ΕΝΔΟΓΕΝΟΥΣ Η ΙΙΚΟΥ RNA ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΣΥΝΗΘΩΣ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΧΑΡΗ ΣΤΗΝ ΠΡΟΣΔΕΣΗ ΤΟΥ ΣΕ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΠΟΥ ΦΕΡΟΥΝ ΚΑΠΟΙΟ ΣΗΜΑ ΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΕΙΣΟΔΟΥ/ΕΞΟΔΟΥ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ (ΜΑΤΤΑΪ AND ENGLMEIER 1988, WHITTAKER AND HELLENIUS 1998). ΤΟ ΣΗΜΑ ΑΥΤΟ ΚΑΘΟΡΙΖΕΙ ΤΗΝ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΕΙΣΟΔΟΥ/ΕΞΟΔΟΥ ΚΑΘΩΣ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΚΑΠΟΙΟΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ Η ΑΚΟΜΗ ΚΑΙ ΑΜΕΣΑ ΑΠΟ ΚΑΠΟΙΟΝ ΥΠΟΔΟΧΕΑ.

ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ PSTVD ΕΙΣΕΡΧΕΤΑΙ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΣΟΛΑΒΗΣΗ ΚΑΠΟΙΟΥ ΑΓΝΩΣΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ Η ΥΠΟΔΟΧΕΑ, ΧΩΡΙΣ ΩΣΤΟΣΟ Η ΕΙΣΟΔΟΣ ΝΑ ΕΜΠΟΔΙΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΜΗ ΥΔΡΟΛΥΟΜΕΝΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΝ ΤΟΥ GTP (WOO ET AL 1999). Η ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΤΟΥ GTP ΕΙΝΑΙ ΠΡΟΥΠΟΘΕΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΙΣΟΔΟ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ, ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΟΠΩΣ ΚΑΙ ΣΤΟΥΣ ΥΠΟΛΟΙΠΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ (MERKLE AND NAGY 1997). Η ΜΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΗΣ RAN ΓΤΡΑΣΗΣ ΣΕ ΓΕΓΟΝΟΣ ΔΙΕΛΕΥΣΗΣ ΕΧΕΙ ΠΑΡΑΤΗΡΗΘΕΙ ΜΟΝΟ ΣΕ ΜΙΑ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ, ΣΤΟΝ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*. ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΘΕΡΜΙΚΟ ΣΟΚ Η ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ ΣΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ, Η ΕΞΟΔΟΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΤΟΥ MRNA ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ HSP70 ΑΥΞΑΝΕΤΑΙ ΕΝΩ Η ΕΞΟΔΟΣ ΤΩΝ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΩΝ MRNAS ΜΕΙΩΝΕΤΑΙ (SAAVEDRA ET AL 1996). Η ΕΝΤΑΣΗ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ ΟΧΙ ΜΟΝΟ ΔΕΝ ΜΕΙΩΝΕΤΑΙ ΣΕ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ RAN, ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΓΝΩΣΤΟ ΟΤΙ

ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΔΙΕΛΕΥΣΗ, ΑΛΛΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ ΑΥΞΑΝΕΤΑΙ. ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΛΟΙΠΟΝ ΟΤΙ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΣΟΚ ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΡΑΝ ΠΑΡΑΚΑΜΠΤΕΤΑΙ Η ΜΕΤΑΤΡΕΠΕΤΑΙ ΩΣΤΕ ΝΑ ΕΥΝΟΗΘΕΙ Η ΜΑΖΙΚΗ ΕΞΟΔΟΣ ΤΩΝ HSP70 MRNA.

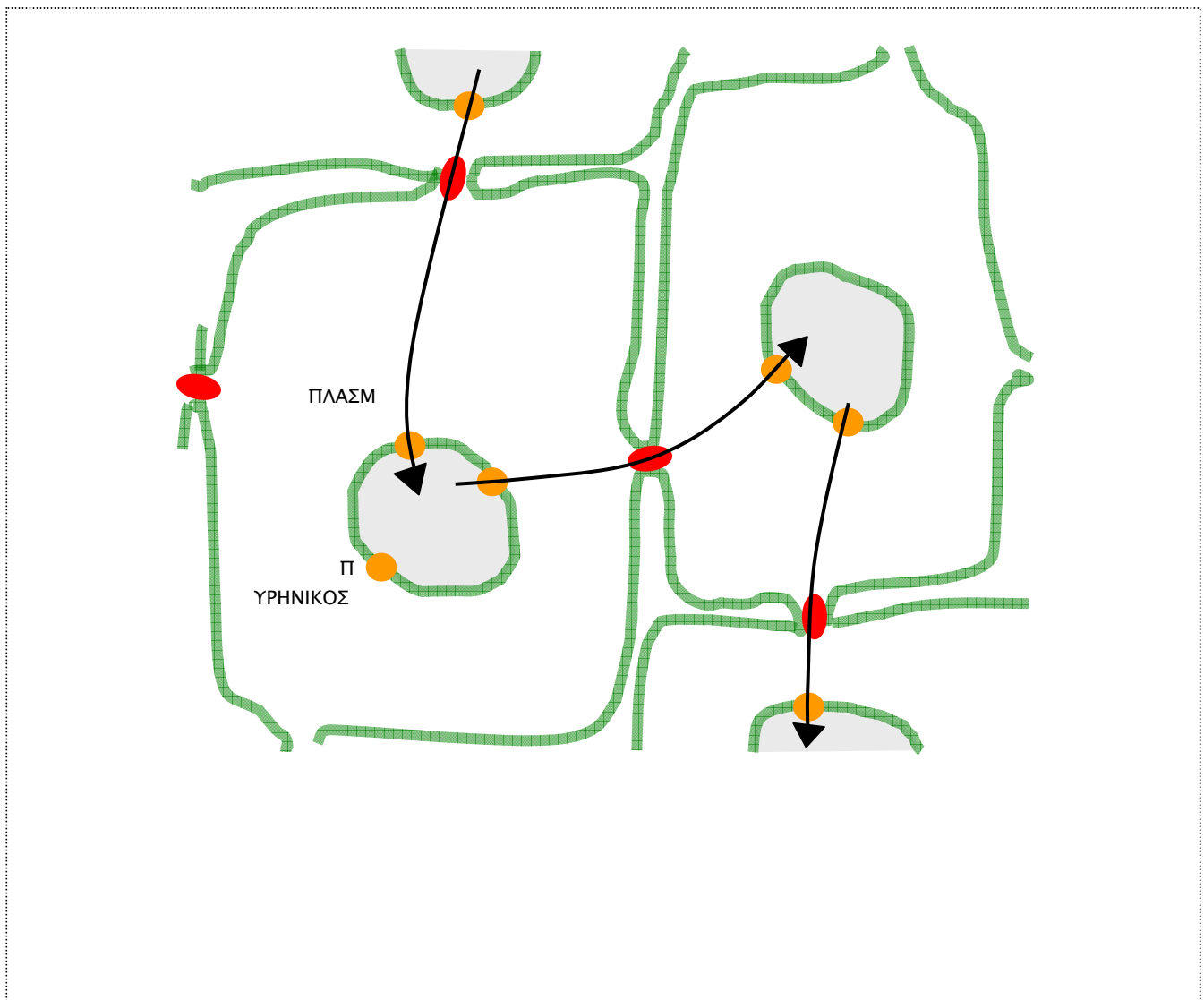
ΥΠΟΘΕΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΝΔΟ/ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ ΤΟΥ PSTVD: ΔΙΑΠΥΡΗΝΙΚΗ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ

Η ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΚΑΙ Η ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΤΟΥ PSTVD ΣΥΜΒΑΙΝΟΥΝ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΚΑΙ ΜΑΛΙΣΤΑ ΤΟ PSTVD ΣΥΣΣΩΡΕΥΕΤΑΙ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΙΣΚΟ (SCHUMACHER ET AL 1983). Ο ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΟΥ PSTVD ΔΕΝ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΚΑΠΟΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ. ΩΣΤΟΣΟ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΥΠΟΧΡΕΟΥΤΑΙ ΝΑ ΔΙΑΣΧΙΣΕΙ ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΠΕΡΑΣΕΙ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΕΠΟΜΕΝΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΚΑΙ ΑΦΟΥ ΔΙΑΣΧΙΣΕΙ ΚΑΙ ΑΥΤΟ ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ ΝΑ ΕΙΣΕΛΘΕΙ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΚΑΙ ΝΑ ΑΝΑΠΑΡΑΧΘΕΙ. ΟΣΟ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟΙ ΠΥΡΗΝΕΣ ΔΕΧΟΝΤΑΙ ΤΟ ΜΟΡΙΟ ΤΟΣΟ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΕΥΝΟΕΙΤΑΙ Η ΔΙΑΙΩΝΙΣΗ ΤΟΥ. ΘΑ ΗΤΑΝ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΩΣ ΑΠΩΛΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟ ΜΟΡΙΟ Η ΠΑΡΑΚΑΜΨΗ ΕΝΟΣ ΠΥΡΗΝΑ ΔΗΛ. Η ΕΞΟΔΟΣ ΑΠΟ ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ ΑΠΕΥΘΕΙΑΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΙΣΟΔΟ ΣΕ ΑΥΤΟ ΔΙΧΩΣ ΝΑ ΜΕΣΟΛΑΒΗΣΕΙ ΤΟ ΠΥΡΗΝΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ.





ΕΝΑΣ ΤΡΟΠΟΣ ΝΑ ΦΑΝΤΑΣΤΕΙ ΚΑΝΕΙΣ ΤΗΝ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ ΕΝΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΕΙΝΑΙ ΟΙ ΕΞΗΣ ΔΥΟ... ΣΤΟ ΠΡΩΤΟ ΣΕΝΑΡΙΟ (ΣΧΗΜΑ ΙΣ.5Α) ΕΝΑ ΙΟΕΙΔΕΣ ΠΟΥ ΜΟΛΙΣ ΕΙΣΗΛΘΕ ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΖΕΙ ΔΥΟ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΑ. ΝΑ ΕΙΣΑΧΘΕΙ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΠΟΡΟΥ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΟΠΟΥ ΘΑ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΕΙ Η ΝΑ ΠΕΡΑΣΕΙ ΜΕΣΩ ΕΝΟΣ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΟΣ ΣΤΟ ΓΕΙΤΟΝΙΚΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΟΠΟΥ ΘΑ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΕΙ ΕΚ ΝΕΟΥ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΤΑΞΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΠΟΡΟΥ Η ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΟΣ ΚΟΚ. ΣΤΟ ΔΕΥΤΕΡΟ ΣΕΝΑΡΙΟ (ΣΧΗΜΑ ΙΣ.5Β) ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΑΠΟΦΕΥΓΕΙ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΚΑΙ ΚΑΤΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΑΠΕΥΘΕΙΑΣ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ, ΟΠΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΖΕΤΑΙ. ΚΑΠΟΙΑ ΑΠΟ ΤΑ ΝΕΟΣΥΝΤΙΘΕΜΕΝΑ ΜΟΡΙΑ ΕΞΕΡΧΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΠΟΡΟΥ ΚΑΙ ΑΦΟΥ ΠΕΡΑΣΟΥΝ ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΣΥΝΟΡΟ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΩΝ, ΕΙΣΕΡΧΟΝΤΑΙ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΤΟΥ ΔΙΠΛΑΝΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ ΜΕΣΩ ΕΝΟΣ ΕΚΕΙ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΠΟΡΟΥ.



ΤΟ ΠΟΙΟ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ ΣΕΝΑΡΙΑ ΕΙΝΑΙ ΣΥΜΦΕΡΟΝ ΓΙΑ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΘΑ ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟΝ ΑΡΙΘΜΟ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΕΙΣΑΧΘΕΙ ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΤΥΧΙΑ ΤΗΣ ΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΕΙΣΟΔΟΥ ΚΑΙ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΑΠΟ ΑΥΤΑ ΤΑ ΜΟΡΙΑ. ΑΝ ΓΙΑ ΕΝΑ ΠΟΣΟΣΤΟ ΜΟΡΙΩΝ Η ΕΙΣΟΔΟΣ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΚΑΙ Ο ΕΚΕΙ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΟΥΣ ΕΙΝΑΙ ΕΞΑΣΦΑΛΙΣΜΕΝΑ, ΤΟΤΕ ΕΥΝΟΕΙΤΑΙ ΤΟ ΠΡΩΤΟ ΣΕΝΑΡΙΟ ΔΙΟΤΙ ΤΑ ΥΠΟΛΟΙΠΑ ΜΟΡΙΑ ΠΟΥ

ΠΕΡΙΣΣΕΥΟΥΝ ΑΞΙΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ ΝΑ ΜΕΤΑΒΟΥΝ ΑΠΕΥΘΕΙΑΣ ΣΤΟ ΕΠΟΜΕΝΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΠΑΡΑΚΑΜΠΤΟΝΤΑΣ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΤΟΥ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΟΥ ΚΟΚ. ΕΤΣΙ ΘΑ ΕΠΙΤΑΧΥΝΕΤΑΙ Η ΔΙΑΜΟΛΥΝΣΗ ΑΦΟΥ ΜΟΡΙΑ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΘΑ ΦΘΑΝΟΥΝ ΓΡΗΓΟΡΑ ΣΕ ΑΠΟΜΑΚΡΥΣΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ. ΑΝ ΟΜΩΣ Η ΤΥΧΗ ΤΩΝ ΝΕΟΦΕΡΜΕΝΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΕΙΝΑΙ ΑΒΕΒΑΙΗ, ΕΙΤΕ ΛΟΓΩ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΟΥ ΑΡΙΘΜΟΥ ΕΙΤΕ/ΚΑΙ ΛΟΓΩ ΧΑΜΗΛΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣ, ΤΟΤΕ ΕΥΝΟΕΙΤΑΙ ΤΟ ΔΕΥΤΕΡΟ ΣΕΝΑΡΙΟ, ΑΥΤΟ ΤΟΥ ΑΠΕΥΘΕΙΑΣ ΚΑΙ ΚΑΤΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΥ ΟΛΩΝ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ.

ΤΟ ΕΑΝ ΜΟΝΟ ΤΟ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ ΣΕΝΑΡΙΑ ΥΦΙΣΤΑΤΑΙ ΩΣ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ Η ΕΑΝ ΤΟ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΕΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΦΑΙΝΟΜΕΝΑ ΔΕΝ ΜΠΟΡΟΥΜΕ ΝΑ ΤΟ ΠΡΟΒΛΕΨΟΥΜΕ ΣΕ ΑΥΤΗ ΤΗ ΦΑΣΗ. ΜΙΑ ΕΛΑΣΤΙΚΗ ΘΕΩΡΗΣΗ ΕΙΝΑΙ ΟΤΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΙΟΕΙΔΗ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΑΚΟΛΟΥΘΟΥΝ ΤΟ ΕΝΑ Η ΤΟ ΑΛΛΟ ΣΕΝΑΡΙΟ. ΑΣ ΣΤΑΘΟΥΜΕ ΟΜΩΣ ΣΕ ΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑ ΞΕΝΙΣΤΟΥ-ΙΟΕΙΔΟΥΣ. ΣΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΔΙΑΜΟΛΥΝΣΗΣ ΚΑΘΩΣ Η ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ Η ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΜΕΤΑΒΑΛΛΟΝΤΑΙ, ΚΑΙ Ο ΤΙΤΛΟΣ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΔΙΑΣΧΙΖΕΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ, ΑΥΞΑΝΕΤΑΙ ΣΤΟ ΦΥΤΟ, ΟΙ ΑΝΑΓΚΕΣ ΚΑΙ ΟΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΩΣ ΜΕΤΑΒΑΛΛΟΝΤΑΙ ΚΑΙ ΑΝΑΛΟΓΑ ΙΣΩΣ ΜΕΤΑΤΡΕΠΕΤΑΙ ΚΑΙ ΤΟ ΣΕΝΑΡΙΟ ΤΗΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ. ΤΑ ΠΡΑΓΜΑΤΑ ΟΜΩΣ ΘΑ ΜΠΟΡΟΥΣΑΝ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΠΙΟ ΑΠΛΑ. ΤΑ ΔΥΟ ΣΕΝΑΡΙΑ ΝΑ ΕΝΑΛΛΑΣΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΔΙΑΜΟΛΥΝΣΗΣ ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΟ ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΤΟΥ ΕΚΑΣΤΟΤΕ ΜΟΡΙΟΥ. ΔΗΛΑΔΗ Η ΠΑΡΑΚΑΜΨΗ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΑ ΝΑ ΕΠΙΤΡΕΠΕΤΑΙ ΜΟΝΟ ΣΕ ΙΟΕΙΔΗ ΠΟΥ ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΤΟΥ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ, ΕΝΩ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΙΣΟΔΟ ΤΟΥΣ ΣΤΟ ΜΕΘΕΠΟΜΕΝΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΝΑ ΚΑΤΕΥΘΥΝΟΝΤΑΙ ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΑ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΤΟΥ.

ΑΥΤΟ ΠΟΥ ΟΥΣΙΑΣΤΙΚΑ ΠΡΟΤΕΙΝΕΤΑΙ ΣΤΟ ΔΕΥΤΕΡΟ ΣΕΝΑΡΙΟ (ΣΧΗΜΑ ΙΣ.5B) ΕΙΝΑΙ ΕΝΑ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΔΙΑΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ. ΠΡΟΥΠΟΘΕΣΗ ΓΙΑ ΕΝΑ ΤΕΤΟΙΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΘΑ ΕΙΝΑΙ Ο ΕΝΤΟΝΟΣ ΠΥΡΗΝΙΚΟΣ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΚΙΝΟΥΜΕΝΟΥ ΜΟΡΙΟΥ. ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ ΤΟΥ PSTVD (DING ET AL 1997) ΕΠΙΔΕΧΟΝΤΑΙ ΜΙΑ ΤΕΤΟΙΑ ΕΡΜΗΝΕΙΑ. ΣΤΙΣ ΕΙΚΟΝΕΣ ΠΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ DING ET AL, ΤΟ ΣΗΜΑΣΜΕΝΟ PSTVD RNA, ΠΟΥ ΑΡΧΙΚΑ ΕΙΧΕ ΕΝΕΘΕΙ ΣΕ ΕΝΑ

ΚΥΤΤΑΡΟ, ΕΧΕΙ ΜΕΤΑΚΙΝΗΘΕΙ ΣΤΑ ΓΕΙΤΟΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ. ΤΟ ΣΥΝΤΡΙΠΤΙΚΑ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΤΟΥ PSTVD ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΟΥΣ ΠΥΡΗΝΕΣ, ΚΥΡΙΩΣ ΤΟΥ ΑΡΧΙΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ.

Αναζήτηση του ρολου της πρωτεϊνης Χ1 στην ενδο/διακυτταρική κυκλοφορία

ΑΝ ΘΕΛΗΣΕΙ ΚΑΝΕΙΣ ΝΑ ΤΟΠΟΘΕΤΗΣΕΙ ΤΟΝ ΠΙΘΑΝΟ ΡΟΛΟ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΤΗΣ ΤΡΕΧΟΥΣΑΣ ΕΡΕΥΝΑΣ, ΤΟΤΕ ΘΑ ΠΕΙ ΟΤΙ Η Χ1 ΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΕΙΤΕ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΙΣΟΔΟ/ΕΞΟΔΟ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΠΟΡΟΥ Η/ΚΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ, ΚΟΝΤΙΝΗ Η ΜΑΚΡΙΝΗ, ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΩΝ. Ο ΑΜΕΣΟΤΕΡΟΣ ΤΡΟΠΟΣ ΝΑ ΞΕΚΑΘΑΡΙΣΤΕΙ ΤΟ ΖΗΤΗΜΑ ΘΑ ΕΙΝΑΙ ΜΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΕΝΔΟ/ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΟΠΩΣ ΑΥΤΑ ΤΩΝ DING ET AL ΚΑΙ WOO ET AL., ΟΠΟΥ ΘΑ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΑΡΑΤΗΡΗΘΟΥΝ ΟΙ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΤΗΣ ΑΠΩΛΕΙΑΣ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ. Η ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΤΕΤΟΙΟΥ ΤΥΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΤΕΙ ΜΕ ΤΗΝ ΣΥΝΕΝΕΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ Χ1 ΜΑΖΙ ΜΕ ΤΟ ΣΗΜΑΣΜΕΝΟ PSTVD. ΠΟΛΥ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΘΑ ΔΩΣΕΙ ΚΑΙ Η ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ PSTVD ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΔΕΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΜΕ ΤΗΝ Χ1 (ΒΛ. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3). ΙΣΩΣ ΔΙΕΥΚΡΙΝΙΣΤΕΙ Ο ΤΡΟΠΟΣ ΜΕ ΤΟΝ ΟΠΟΙΟ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΕΙΤΑΙ Η ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ ΤΟΥ RNA ΚΑΙ Η ΦΑΣΗ ΣΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΕΙΝΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΗ Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΙΝΗ. ΣΥΓΚΡΕΚΡΙΜΕΝΑ, ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΝΤΑΙ ΤΑ ΕΞΗΣ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΑ:

- ΤΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ ΣΥΜΠΕΡΙΦΕΡΕΤΑΙ ΟΠΩΣ Ο ΑΓΡΙΟΣ ΤΥΠΟΣ ΔΗΛ. ΕΙΣΕΡΧΕΤΑΙ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΤΟΥ ΑΡΧΙΚΟΥ ΚΑΙ ΤΩΝ ΓΕΙΤΟΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ. ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΥΤΗ, Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΕΚΤΕΛΕΙ ΚΑΠΟΙΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ, ΠΙΘΑΝΟΤΑΤΑ ΣΤΗΝ ΜΑΚΡΙΝΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΦΛΟΙΩΜΑΤΟΣ, Η ΟΠΟΙΑ ΔΕΝ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΣΤΟ ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟ ΠΕΙΡΑΜΑ.
- ΤΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ ΕΙΣΕΡΧΕΤΑΙ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ ΓΙΝΕΤΑΙ Η ΕΝΕΣΗ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΜΕΤΑΚΙΝΕΙΤΑΙ ΣΤΑ ΔΙΠΛΑΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ. ΤΟΤΕ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΞΟΔΟ ΑΠΟ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ Η/ΚΑΙ ΤΗΝ ΔΙΑΣΧΙΣΗ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΩΝ.

- ΤΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ ΔΕΝ ΕΙΣΕΡΧΕΤΑΙ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΑΛΛΑ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΖΕΤΑΙ ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ ΓΕΙΤΟΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ. ΤΟΤΕ Η Χ1 ΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΙΣΟΔΟ ΤΟΥ ΡSΤVΔ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΚΑΙ ΔΕΝ ΣΥΜΜΕΤΕΧΕΙ ΣΤΗΝ ΔΙΑΣΧΙΣΗ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΩΝ. ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΥΤΗ ΙΣΧΥΕΙ ΤΟ ΠΡΩΤΟ ΣΕΝΑΡΙΟ ΕΝΔΟ/ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ.
- ΤΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ ΔΕΝ ΕΙΣΕΡΧΕΤΑΙ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΟΥΤΕ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΖΕΤΑΙ ΣΤΑ ΓΕΙΤΟΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ. ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΥΤΗ, Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΕΙΝΑΙ ΝΑ ΕΙΣΑΓΑΓΕΙ ΤΟ ΙΟΕΙΔΟΣ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΑΠΟ ΟΠΟΥ ΑΥΤΟ ΘΑ ΜΠΟΡΕΣΕΙ ΝΑ ΜΕΤΑΚΙΝΗΘΕΙ ΣΤΟ ΓΕΙΤΟΝΙΚΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΚΑΙ ΤΟΤΕ ΦΥΣΙΚΑ ΙΣΧΥΕΙ ΤΟ ΔΕΥΤΕΡΟ ΣΕΝΑΡΙΟ, ΑΥΤΟ ΤΗΣ ΔΙΑΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ ΤΟΥ RNA.

ΙΣΩΣ ΑΞΙΖΕΙ ΤΟΝ ΚΟΠΟ ΝΑ ΕΞΕΤΑΣΤΟΥΝ ΚΑΙ ΚΑΠΟΙΑ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΑ ΕΝΟΣ ΠΙΟ ΣΥΝΘΕΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ. ΜΙΑ ΣΥΝΘΕΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ Χ1, ΠΟΛΥ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΗ ΓΙΑ ΤΟ ΙΟΕΙΔΟΣ, ΘΑ ΗΤΑΝ, ΕΠΙΠΕΛΕΟΝ ΤΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ, Η ΠΑΡΑΔΟΣΗ ΤΟΥ ΡSΤVΔ ΣΤΟ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟ ΣΥΜΠΛΟΚΟ ΠΟΥ ΕΚΤΕΛΕΙ ΤΗΝ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ RNA. ΚΑΤΙ ΠΑΡΟΜΟΙΟ ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΝΑ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΩΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΗ *DROSOPHILA MELANOGASTER*. Η ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΕΞΟΔΟΣ, Ο ΚΟΡΥΦΑΙΟΣ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΚΑΙ Η ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ ΤΟΥ *GURKEN* MRNA ΣΥΖΕΥΓΝΟΝΤΑΙ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΙΣΟΜΟΡΦΩΝ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ SQUID (NORVELL ET AL 1999). Η ΙΔΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΞΟΔΟ ΑΠΟ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΚΑΙ ΤΟΝ ΚΟΡΥΦΑΙΟ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΩΝ ΤΟΥ *FUSHI TARAZU* (LALL ET AL 1999).

Ο ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ Χ1 ΣΤΟ ΦΥΤΟ ΚΑΙ ΤΟ ΕΝΔΟΓΕΝΕΣ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ (;)

ΜΕ ΟΠΟΙΟ ΤΡΟΠΟ ΚΑΙ ΑΝ ΥΠΟΣΤΗΡΙΖΕΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΤΗΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗΣ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΗΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΣΤΟ ΦΥΤΟ, ΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΠΟΥ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΖΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΦΑΣΗ ΑΥΤΗ ΕΙΝΑΙ ΟΤΙ ΕΝΑ RNA, ΤΟ ΡSΤVΔ, ΠΟΥ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΜΙΑ ΦΥΤΙΚΗ ΠΡΩΤΕΙΝΗ, ΤΗΝ Χ1, ΕΧΕΙ ΤΗΝ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑ ΝΑ ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΤΕΙ ΣΤΟ ΦΥΤΟ. ΑΝ Η ΔΙΑΣΚΟΡΠΙΣΗ ΣΤΟ ΦΥΤΟ ΕΙΝΑΙ ΕΠΙΤΡΕΠΤΗ ΓΙΑ ΕΝΑ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟ RNA ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΛΟΓΟΣ ΝΑ ΜΗΝ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΤΟ ΙΔΙΟ ΓΙΑ ΚΑΠΟΙΟ/Α ΕΝΔΟΓΕΝΗ RNA. ΠΟΙΑ RNA ΚΑΙ ΓΙΑ ΠΟΙΟΝ ΛΟΓΟ

ΔΙΑΣΚΟΡΠΟΥΝΤΑΙ; Η ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΠΟΥ ΥΠΟΣΤΗΡΙΖΕΙ ΤΕΤΟΙΑ ΣΥΜΒΑΝΤΑ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΠΡΟΣ ΤΟ ΠΑΡΟΝ ΠΡΟΦΑΝΗΣ, ΚΑΘΩΣ ΤΑ ΓΝΩΣΤΑ ΦΑΙΝΟΜΕΝΑ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ ΕΝΔΟΓΕΝΟΥΣ RNA ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΛΙΓΑ ΚΑΙ Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥΣ ΟΧΙ ΠΛΗΡΩΣ ΚΑΤΑΝΟΗΤΗ.

ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΟΥ *KNOTTED 1*, ΤΟ MRNA ΜΕΤΑΦΕΡΕΤΑΙ ΩΣ ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΟ ΣΗΜΑ ΣΤΑ ΓΕΙΤΟΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΠΟΙΩΝ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑΤΙΚΩΝ ΙΣΤΩΝ (LUCKAS ET AL 1995). ΟΜΩΣ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΕΚΦΡΑΖΕΤΑΙ ΜΟΝΟ ΣΕ ΑΥΤΟΥΣ ΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ, ΑΝΤΙΘΕΤΑ ΜΕ ΤΟ MRNA ΤΗΣ *X1* ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΠΑΝΤΟΥ (MARTINEZ E, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ) ΚΑΙ ΕΠΟΜΕΝΩΣ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΑΝΑΜΕΝΕΤΑΙ ΝΑ ΕΧΕΙ ΕΝΑΝ ΠΙΟ ΓΕΝΙΚΕΥΜΕΝΟ ΡΟΛΟ. Η ΔΕΥΤΕΡΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ ΕΝΔΟΓΕΝΟΥΣ RNA, ΕΙΝΑΙ ΤΟΥ *SUT1*, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΕΝΑΝ ΜΕΤΑΦΟΡΕΑ ΤΗΣ ΣΑΚΧΑΡΟΖΗΣ. ΤΟ *SUT1* RNA ΕΝΤΟΠΙΖΕΤΑΙ ΣΤΟΝ ΗΘΜΩΔΗ ΣΩΛΗΝΑ ΟΠΟΥ ΕΙΣΕΡΧΕΤΑΙ, ΟΠΩΣ ΠΙΣΤΕΥΕΤΑΙ, ΑΠΟ ΤΑ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΑ ΟΠΟΙΑ ΣΥΝΤΙΘΕΤΑΙ, ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΟΔΕΣΜΑΤΩΝ ΜΕ ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΚΑΤΑ ΠΡΟΤΙΜΗΣΗ ΣΥΝΔΕΕΤΑΙ ΤΟ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟ RNA (KUH N ET AL 1997). ΠΑΝΤΩΣ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΜΟΝΑΔΙΚΟ RNA ΠΟΥ ΔΙΑΚΙΝΕΙΤΑΙ ΕΚΕΙ ΚΑΘΩΣ Ο ΦΛΟΙΩΜΑΤΙΚΟΣ ΧΥΜΟΣ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΝΟΥΚΛΕΙΝΙΚΑ ΟΞΕΑ ΣΕ ΠΟΣΟΣΤΟ 1%.

Η ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΤΟΥ RNA ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΕΝΑ ΖΗΤΗΜΑ ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΧΕΙ ΔΟΘΕΙ ΠΡΟΣΦΑΤΑ ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΛΟΓΩ ΤΟΥ ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΜΕ ΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΟΜΟΛΟΓΗΣ ΜΕΤΑ-ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΣΙΩΠΗΣΗΣ, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΩΣΤΟΣΟ ΠΑΡΑΤΗΡΕΙΤΑΙ ΚΑΙ ΣΕ ΜΗ ΦΥΤΙΚΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ. ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΠΟΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ MRNA ΕΝΟΣ ΓΟΝΙΔΙΟΥ, ΕΝΔΟΓΕΝΟΥΣ Η ΙΙΚΟΥ, Η ΟΠΟΙΑ ΠΑΡΑΤΗΡΕΙΤΑΙ ΟΤΑΝ ΕΝΑ ΑΝΤΙΓΡΑΦΟ ΤΟΥ ΙΔΙΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ, Η ΚΑΠΟΙΟΥ ΑΛΛΟΥ ΜΕ ΥΨΗΛΗ ΟΜΟΛΟΓΙΑ, ΥΠΕΡΕΚΦΡΑΖΕΤΑΙ, ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ Η ΜΟΛΥΝΣΗ ΜΕ ΙΟ (GRANT 1999, FIRE 1999, WASSENEGGER AND PELISSIER 1998, WASSENEGGER AND PELISSIER 1999, HUNTER 1999, BAULCOMBE ET AL 1999, COGONI AND MACINO 1997). ΟΙ ΔΥΟ ΕΞΕΛΙΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ ΣΤΟ ΖΗΤΗΜΑ ΑΥΤΟ ΗΤΑΝ Η ΔΙΑΠΙΣΤΩΣΗ ΟΤΙ ΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΔΙΑΔΙΔΕΤΑΙ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΜΕΡΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΦΛΟΙΩΜΑΤΟΣ (PALAQUI AND VAUCHERET 1998) ΚΑΙ ΟΤΙ ΤΟ ΔΙΚΛΩΝΟ RNA, ΑΚΟΜΗ ΚΑΙ ΣΕ ΑΠΕΙΡΟΕΛΑΧΙΣΤΕΣ ΠΟΣΟΤΗΤΕΣ ΔΙΕΓΕΙΡΕΙ ΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ (FIRE ET AL 1998). ΤΟ ΠΩΣ ΠΑΡΑΓΕΤΑΙ ΤΟ ΔΙΚΛΩΝΟ RNA ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΓΝΩΣΤΟ, ΠΑΝΤΩΣ ΣΤΗΝ *NEUROSPORA CRASSA* ΤΟ

ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΑΠΑΙΤΕΙ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΕΝΟΣ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΟΜΟΛΟΓΟ ΜΕ ΤΗΝ RNA-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ RNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ (COGONI AND MACINO 1999), ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΗΣ ΟΠΟΙΑΣ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΑΠΟ ΤΗΝ ΤΟΜΑΤΙΑ (SCHIEBEL ET AL 1998). ΤΟ ΣΗΜΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΙΑΔΟΣΗ ΣΤΟ ΦΥΤΟ ΤΗΣ ΟΜΟΛΟΓΗΣ ΜΕΤΑ-ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΗΣ ΣΙΩΠΗΣΗΣ ΠΙΣΤΕΥΕΤΑΙ ΠΩΣ ΕΙΝΑΙ ΚΑΠΟΙΟ/Α ΜΕΤΑΚΙΝΟΥΜΕΝΟ RNA (JORGENSEN ET AL 1998).

ΑΝ ΠΡΑΓΜΑΤΙ Η ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΤΟΥ RNA ΣΤΟ ΦΥΤΟ ΕΙΝΑΙ ΕΝΑ ΓΕΝΙΚΟΤΕΡΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ, ΑΥΤΟ ΙΣΩΣ ΝΑ ΣΗΜΑΙΝΕΙ, ΜΕΤΑΞΥ ΑΛΛΩΝ, ΟΤΙ ΦΥΤΟ ΕΙΝΑΙ ΣΕ ΘΕΣΗ ΝΑ ΔΙΑΚΙΝΕΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΜΕΡΗ ΤΟΥ. Η ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΔΙΑΡΚΕΣΕΙ ΟΣΟ ΚΑΙ Η ΖΩΗ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ, ΕΝΩ ΚΑΠΟΙΑ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΜΕΝΑ ΜΕΡΗ ΕΙΝΑΙ ΣΕ ΚΑΠΟΙΟ ΒΑΘΜΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΣ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΑ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ. ΣΕ ΕΝΑ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΜΕΝΟ ΜΕΡΟΣ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΑΠΙΘΑΝΟ ΝΑ ΣΥΜΒΟΥΝ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ, ΜΕ ΑΡΝΗΤΙΚΕΣ Η ΘΕΤΙΚΕΣ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΓΙΑ ΤΟ ΕΝ ΛΟΓΩ ΜΕΡΟΣ ΚΑΙ ΓΙΑ ΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ. Η ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΕΣ ΜΙΚΡΟΕΞΕΛΙΞΗΣ ΑΦ ΕΝΟΣ ΘΑ ΑΠΟΚΑΘΙΣΤΟΥΣΕ ΛΑΘΗ, ΑΦ ΕΤΕΡΟΥ ΘΑ ΕΓΚΑΘΙΣΤΟΥΣΕ ΒΕΛΤΙΩΤΙΚΕΣ ΠΡΩΤΟΤΥΠΙΕΣ. ΕΝΑ ΤΕΤΟΙΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΟΠΩΣΔΗΠΟΤΕ ΘΑ ΠΡΟΣΕΔΙΔΕ ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ ΕΝΑΝ ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΟ ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΣΜΟ.

ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ

ΤΗΣ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ

ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ PSTVD

ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ

ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ
ΕΙΣΑΓΩΓΗ ¹¹⁵



ΙΙΕ.1 ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΑΠΛΟΥΣΤΕΡΑ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΟΥ ΓΝΩΡΙΖΟΥΜΕ. ΙΣΩΣ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΚΑΙ ΤΑ ΑΠΛΟΥΣΤΕΡΑ ΠΟΥ ΥΠΑΡΧΟΥΝ. ΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΩΝ ΞΕΝΙΣΤΩΝ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΚΑΛΥΠΤΕΙ ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΑ ΤΟ ΦΑΣΜΑ ΤΩΝ ΑΓΓΕΙΟΣΠΕΡΜΩΝ. ΤΟ ΓΕΓΟΝΟΣ ΟΤΙ ΕΙΝΑΙ ΔΙΑΧΥΤΗ ΣΤΟ ΦΥΤΙΚΟ ΒΑΣΙΛΕΙΟ Η ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑ ΝΑ ΥΠΟΣΤΗΡΙΧΤΕΙ Η ΔΙΑΙΩΝΙΣΗ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ, ΚΑΤ' ΑΡΧΗΝ ΥΠΟΝΟΕΙ ΟΤΙ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΤΟΥΣ ΣΤΟΙΧΕΙΩΔΕΙΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ, ΚΟΙΝΕΣ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΦΥΤΑ. ΑΝ ΩΣΤΟΣΟ ΤΑ ΠΡΑΓΜΑΤΑ ΗΤΑΝ ΤΟΣΟ ΑΠΛΑ, ΟΛΑ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΘΑ ΗΤΑΝ ΣΕ ΘΕΣΗ ΝΑ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΖΟΝΤΑΙ ΣΕ ΟΛΑ ΤΑ ΦΥΤΑ, ΠΡΑΓΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ. ΓΙΑ ΝΑ ΕΚΜΕΤΑΛΛΕΥΤΕΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΕΝΑΝ ΦΥΤΙΚΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ, ΕΝΑ ΙΟΕΙΔΕΣ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙ ΜΕ ΤΟ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟ ΒΙΟΜΟΡΙΑΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ. ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΑΥΤΟ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΙ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ Η ΟΠΟΙΑ ΑΝΤΑΝΑΚΛΑΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ. ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ 12 ΙΟΕΙΔΗ ΕΙΝΑΙ ΓΝΩΣΤΑ, ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΦΑΣΜΑΤΑ ΞΕΝΙΣΤΩΝ ΜΕΣΑ ΣΤΟ ΦΥΤΙΚΟ ΒΑΣΙΛΕΙΟ.

ΕΙΝΑΙ ΕΠΟΜΕΝΟ ΝΑ ΑΝΑΡΩΤΗΘΕΙ ΚΑΝΕΙΣ ΑΝ Η ΚΟΙΝΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΒΑΣΗ ΠΟΥ ΣΤΑ ΦΥΤΑ ΥΠΟΣΤΗΡΙΖΕΙ ΤΟΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΚΑΙ ΣΕ ΑΛΛΟΥΣ, ΚΑΤΑ ΠΡΟΤΙΜΗΣΗ ΑΠΛΟΥΣΤΕΡΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ. ΕΑΝ ΝΑΙ, ΚΑΙ ΥΠΟ ΤΗΝ ΠΡΟΥΠΟΘΕΣΗ ΟΤΙ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΚΑΙ ΝΑ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΤΕΙ ΑΠΟ ΤΟ ΜΟΡΙΟ ΕΝΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ, ΤΟΤΕ ΤΟ ΦΑΣΜΑ ΞΕΝΙΣΤΩΝ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΕΠΕΚΤΑΘΕΙ ΚΑΙ ΕΚΤΟΣ ΤΟΥ ΦΥΤΙΚΟΥ ΒΑΣΙΛΕΙΟΥ, Π.Χ. ΣΤΟΥΣ ΜΥΚΗΤΕΣ. ΠΕΡΑΝ ΤΗΣ ΣΗΜΑΣΙΑΣ ΠΟΥ ΕΝΑ ΤΕΤΟΙΟ ΓΕΓΟΝΟΣ ΘΑ ΕΧΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΝΟΗΣΗ ΤΗΣ ΕΞΕΛΙΞΗΣ ΤΩΝ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΩΝ ΑΥΤΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ, Η ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΜΕ ΕΝΑΝ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ ΕΙΝΑΙ ΠΟΛΥ ΠΙΟ ΕΥΚΟΛΗ ΚΑΙ ΤΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΠΟΥ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΩΣ ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΟΥΝ ΤΙΣ ΕΡΕΥΝΕΣ ΣΤΟΝ ΠΟΛΥΚΥΤΤΑΡΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ.

ΙΙΕ.2 ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΙΟΛΟΓΙΑ ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ

Η ΕΠΙΤΥΧΙΑ ΤΗΣ ΔΙΑΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΕΝΟΣ ΦΥΤΟΥ ΜΕ ΕΝΑΝ ΙΟ Η ΚΑΠΟΙΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΔΙΕΚΠΕΡΑΙΩΣΗ ΤΩΝ ΦΑΣΕΩΝ ΤΟΥ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ

ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ, ΤΩΝ ΟΠΟΙΩΝ Η ΕΠΑΛΛΗΛΙΑ ΣΥΝΘΕΤΕΙ ΤΗΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ. ΣΕ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ Η ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΑΡΑΤΗΡΗΘΕΙ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΑ, ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΜΕΝΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΟΥΠΟΘΕΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗΣ ΠΟΥ ΣΤΗΝ ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΝΑΙ ΠΕΡΙΤΤΗ. Η ΔΥΣΚΟΛΙΑ ΣΤΗ ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΕΝΟΣ ΙΟΥ ΜΕΣΑ ΣΤΟΝ ΦΥΤΙΚΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ ΕΙΝΑΙ ΑΥΤΟ ΠΟΥ ΣΥΧΝΑ ΠΕΡΙΟΡΙΖΕΙ ΤΟ ΕΥΡΟΣ ΤΩΝ ΞΕΝΙΣΤΩΝ. ΑΥΤΟΣ Ο ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΠΡΩΤΟΠΛΑΣΤΩΝ, ΟΠΟΥ ΕΝΑΣ ΙΟΣ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΕΙ ΕΠΙΤΥΧΩΣ, ΑΚΟΜΑ ΚΑΙ ΟΤΑΝ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΣΕ ΘΕΣΗ ΝΑ ΜΟΛΥΝΕΙ ΔΙΑΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΑ ΤΟ ΦΥΤΟ (SULZINSKI AND ZAITLIN 1982, BEIER ET AL 1977).

ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ PSTVD ΚΑΙ CEVD ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΔΙΑΙΩΝΙΣΤΟΥΝ ΣΕ ΜΟΝΙΜΕΣ ΦΥΤΙΚΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ (MUHLBACH AND SANGER 1981, ZELCER ET AL 1981, MARTON ET AL 1982). Η ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ Η ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΤΟΥΣ ΕΠΕΤΡΕΨΕ ΤΗΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΜΕΓΑΛΩΝ ΠΟΣΟΤΗΤΩΝ (BERLIN ET AL 1985) ΩΣΤΕ ΝΑ ΕΝΤΟΠΙΣΤΟΥΝ ΣΠΑΝΙΕΣ ΕΝΔΙΑΜΕΣΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣ (MUHLBACH ET AL 1983). ΟΙ ΜΟΛΥΣΜΕΝΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΣΕ ΚΑΠΟΙΕΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ ΕΧΟΥΝ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ, ΔΙΧΩΣ ΟΜΩΣ ΝΑ ΕΧΕΙ ΔΙΕΥΚΡΙΝΙΣΤΕΙ ΤΟ ΠΩΣ ΤΑ ΙΟΕΙΔΗ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΑΥΤΗ ΤΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΚΑΙ ΑΝ ΑΥΤΗ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΟ ΦΥΤΟ (MUHLBACH 1981, ZELCER 1981, MARTON 1982, STOCKER 1993).

ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΓΙΝΟΝΤΑΙ ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΔΥΣΚΟΛΟ Η ΑΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΟΥΝ ΣΤΟΝ ΠΟΛΥΚΥΤΤΑΡΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ, ΩΣΤΟΣΟ Η ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΑΝΕΣΗ ΠΟΥ ΠΡΟΣΦΕΡΟΥΝ ΤΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΠΑΡΑΜΕΝΕΙ ΑΞΕΠΕΡΑΣΤΗ. Η ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΦΑΓΩΝ ΜΕ ΤΟΥΣ ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥΣ ΕΧΕΙ ΠΑΡΑΓΕΙ ΠΛΗΘΩΡΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ. ΟΜΩΣ ΕΜΕΙΣ ΑΝΑΖΗΤΟΥΜΕ ΕΝΑ ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ, ΠΟΥ ΘΑ ΠΡΟΣΣΕΓΓΙΖΕΙ ΠΕΡΟΣΣΟΤΕΡΟ ΑΠΟ ΟΤΙ ΕΝΑ ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΟ ΤΟΥΣ ΦΥΤΙΚΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ. ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΠΛΕΟΝ ΔΙΑΔΕΔΟΜΕΝΑ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΙΝΑΙ Ο ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑΣ.

Ο ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑΣ ΕΧΕΙ ΤΟΥΣ ΔΙΚΟΥΣ ΤΟΥ ΙΟΥΣ, ΠΟΥ ΑΝΗΚΟΥΝ ΣΕ ΔΥΟ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ (WICKNER 1989, WICKNER 1992). Η ΠΡΩΤΗ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΜΕΛΗ ΜΕ ΚΥΚΛΙΚΟ DSRNA

ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ (WICKNER 1996) ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΠΕΡΙΕΧΕΤΑΙ ΣΕ ΙΟΣΩΜΑΤΙΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΜΕΝΟΥΝ ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ. Η ΔΕΥΤΕΡΗ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΙΟΥΣ ΠΟΥ ΔΕΝ ΕΧΟΥΝ ΕΠΙΚΑΛΥΜΑ ΚΑΙ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΕ ΔΥΟ ΜΟΡΦΕΣ, ΕΙΤΕ ΩΣ ΜΟΝΟΚΛΩΝΟ ΚΥΚΛΙΚΟ RNA ΕΙΤΕ ΩΣ ΔΙΚΛΩΝΟ ΓΡΑΜΜΙΚΟ RNA (ESTEBAN ET AL 1992). ΑΝΤΙΘΕΤΑ ΜΕ ΤΟΥΣ ΙΟΥΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΚΥΤΤΑΡΩΝ ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΑΛΛΑ ΚΑΙ ΜΕ ΤΟΥΣ ΦΑΓΟΥΣ ΤΩΝ ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΩΝ, Η ΖΩΗ ΤΩΝ ΙΩΝ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΜΟΝΟ ΤΗΝ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΦΑΣΗ. ΘΑ ΜΠΟΡΟΥΣΑΝ ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΝΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΟΥΝ ΚΑΙ ΩΣ RNA ΕΠΙΣΩΜΑΤΑ. Η ΟΡΙΖΟΝΤΙΑ ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΙΑΙΩΝΙΣΗ ΚΑΘΕ ΕΓΩΙΣΤΙΚΟΥ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΥ ΣΤΟΙΧΕΙΟΥ ΕΞΑΣΦΑΛΙΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΑΛΛΗΠΑΛΛΗΛΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ ΣΥΖΕΥΞΗΣ ΠΟΥ ΣΥΜΒΑΙΝΟΥΝ ΚΑΘΩΣ Η ΑΠΛΟΕΙΔΗΣ ΦΑΣΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΤΟΥ ΜΥΚΗΤΑ ΕΝΑΛΛΑΣΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ.

Η ΕΚΤΕΤΑΜΕΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΙΩΝ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΜΕ ΤΟΝ ΞΕΝΙΣΤΗ ΤΟΥΣ ΟΦΕΙΛΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΥΚΟΛΙΑ ΤΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΧΕΙΡΙΣΜΩΝ ΠΟΥ ΕΠΙΤΡΕΠΕΙ Ο ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑΣ ΩΣ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΟΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΠΟΥ ΑΝΑΠΑΡΑΓΕΤΑΙ ΓΡΗΓΟΡΑ ΚΑΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΖΕΤΑΙ ΕΥΚΟΛΑ.

Ο ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑΣ ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΠΩΣ ΕΧΕΙ ΤΗΝ ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑ ΝΑ ΦΙΛΟΞΕΝΗΣΕΙ ΣΤΙΓΜΙΟΤΥΠΑ ΤΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΕΤΕΡΟΛΟΓΩΝ ΙΩΝ, ΟΠΩΣ ΕΔΕΙΞΑΝ ΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗΣ ΜΕ ΤΟΝ ΦΥΤΙΚΟ ΙΟ BROME MOSAIC VIRUS (JANDA AND AHLQUIST 1993, QUADT ET AL 1995). ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ ΤΟΥ BMV ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ 3 ΓΡΑΜΜΙΚΑ RNA. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ *S. CEREVISIAE* ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΗΚΑΝ ΕΤΣΙ ΩΣΤΕ ΤΑ RNA1 ΚΑΙ RNA2 ΝΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟΝΤΑΙ ΣΤΑΘΕΡΑ ΚΑΙ ΝΑ ΕΚΦΡΑΖΟΝΤΑΙ ΟΙ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣ ΤΟΥ RNA. ΤΟ RNA3 ΕΙΣΗΧΘΗΚΕ ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΔΙΑΠΕΡΑΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΠΙΣΤΩΘΗΚΕ ΟΤΙ Ο ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑΣ ΥΠΟΣΤΗΡΙΖΕΙ ΤΗΝ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ (JANDA AND AHLQUIST 1993). ΕΠΟΜΕΝΩΣ Ο ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑΣ ΔΙΑΘΕΤΕΙ ΤΟ ΒΙΟΜΟΡΙΑΚΟ ΣΥΝΟΛΟ ΜΕ ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΤΑ RNA ΚΑΙ ΟΙ ΔΥΟ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ Ο ΙΟΣ, ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΔΙΕΚΠΕΡΑΙΩΘΕΙ Η ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ RNA3.

ΙΙΕ.3 ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΤΟΥ ΔΕΥΤΕΡΟΥ ΜΕΡΟΥΣ

ΑΦΟΥ ΤΟ RNA ΕΝΟΣ ΦΥΤΙΚΟΥ ΙΟΥ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΑΝΤΙΓΡΑΦΕΙ ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ, ΓΙΑΤΙ ΝΑ ΜΗΝ ΣΥΜΒΕΙ ΤΟ ΙΔΙΟ ΜΕ ΤΟ RNA ΕΝΟΣ ΦΥΤΙΚΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ.

Η ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΟ ΦΥΤΟ, ΠΑΡΟΔΙΚΑ ΜΕ ΤΗΝ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗ (TABLER AND SANGER 1984) Η ΜΟΝΙΜΑ ΜΕΣΩ ΑΓΡΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ (GARDNER ET AL 1986), ΤΜΗΜΑΤΩΝ CDNA ΠΟΥ ΑΠΟΤΕΛΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ ΤΗΣ ΑΚΟΛΟΥΘΙΑΣ ΤΟΥ PSTVD, ΜΕ Η ΧΩΡΙΣ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ, ΟΔΗΓΕΙ ΣΕ ΔΙΑΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΜΟΛΥΝΣΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΜΕ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ. ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΕΤΟΙΑ ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ CDNA ΕΙΣΗΧΘΗΣΑΝ ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΜΕ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ, ΦΕΡΟΜΕΝΑ ΣΕ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ. ΤΙΣ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΕΣ ΦΟΡΕΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΑΠΟ ΤΗΝ RNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ II Η ΤΗΝ III, ΩΣΤΕ ΝΑ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΣΕ ΥΨΗΛΟΥΣ ΡΥΘΜΟΥΣ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ RNA ΤΟΥ PSTVD (+) Η (-) ΠΟΛΙΚΟΤΗΤΑΣ.

ΟΤΑΝ ΕΝΑ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΕΙΣΑΓΕΤΑΙ ΣΕ ΕΝΑΝ ΥΠΟΨΗΦΙΟ ΞΕΝΙΣΤΗ, ΑΝΑΜΕΝΕΤΑΙ ΝΑ ΔΙΑΠΙΣΤΩΘΕΙ ΑΡΧΙΚΑ ΕΑΝ ΑΥΤΟΣ ΥΠΟΣΤΗΡΙΖΕΙ ΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΤΟΙΧΕΙΟΥ ΚΑΙ, ΟΤΑΝ ΑΥΤΟ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ, ΠΟΙΕΣ ΕΙΝΑΙ ΟΙ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΠΑΝΩ ΣΤΟΝ ΞΕΝΙΣΤΗ. ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΠΡΟΒΛΕΠΕΤΑΙ ΝΑ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΙ Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΑΥΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣ. ΕΦΟΣΟΝ ΣΥΝΔΥΑΣΤΟΥΝ, ΕΠΙΤΥΓΧΑΝΕΤΑΙ Ο ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ. ΕΑΝ ΟΙ ΔΥΟ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΩΣ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΕΣ, ΤΟΤΕ ΘΑ ΕΙΝΑΙ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΩΣ ΔΥΝΑΤΗ Η ΔΙΕΚΠΕΡΑΙΩΣΗ ΤΗΣ ΜΙΑΣ ΑΠΟΥΣΙΑ ΤΗΣ ΑΛΛΗΣ. ΕΤΣΙ, ΑΦΟΥ Ο ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΘΗΚΕ ΜΕ CDNA ΤΟΥ PSTVD, ΕΛΕΓΧΘΗΚΕ ΑΝ, ΠΕΡΑΝ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟΥ ΠΟΥ ΠΡΟΕΡΧΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ, ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΩΣ ΑΛΛΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ. ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΑ, ΑΝ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΜΟΝΟ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ, ΤΟ (+) ΟΛΙΓΟΜΕΡΕΣ ΘΑ ΔΙΝΕΙ ΤΟ (-) ΟΛΙΓΟΜΕΡΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΑ. ΕΑΝ ΠΑΛΙ ΜΟΝΟ Η ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΗ ΤΟΤΕ ΑΠΟ ΤΟ (+) ΟΛΙΓΟΜΕΡΕΣ ΘΑ ΠΡΟΚΥΠΤΕΙ ΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ. ΕΑΝ ΩΣΤΟΣΟ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΤΑ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ ΜΑΖΙ ΜΕ ΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ ΤΟΤΕ Ο ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΟΥ PSTVD ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΕΙΝΑΙ ΓΕΓΟΝΟΣ.

ΑΚΟΜΗ ΚΑΙ ΟΤΑΝ ΤΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙ ΕΝΑ ΙΟΕΙΔΕΣ ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΣΕ ΕΝΑΝ ΥΠΟΨΗΦΙΟ ΞΕΝΙΣΤΗ, ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΒΕΒΑΙΟ ΟΤΙ ΘΑ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΤΟΥΝ ΑΠΟ ΤΟ ΜΟΡΙΟ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΙΝΑΙ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΜΕΝΟ ΣΤΟΝ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΟ ΞΕΝΙΣΤΗ. Η ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΕΝ ΜΕΡΕΙ ΕΙΝΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΕΥΕΛΙΞΙΑΣ ΤΟΥΣ, Η ΟΠΟΙΑ ΕΠΙΤΡΕΠΕΙ ΤΗΝ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΕΝΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΣΕ ΕΝΑΝ ΝΕΟ ΞΕΝΙΣΤΗ. ΕΝΑ ΤΕΤΟΙΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΕΙΝΑΙ Η ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ PSTVD ΠΟΥ ΠΡΟΕΡΧΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΝΤΟΜΑΤΙΑ, ΣΤΟ ΦΥΤΟ ΤΟΥ ΚΑΠΝΟΥ. Ο ΚΑΠΝΟΣ ΔΕΝ ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΞΕΝΙΣΤΗ ΓΙΑ ΤΟ PSTVD ΕΚΤΟΣ ΕΑΝ ΤΟ ΜΟΡΙΟ ΑΠΟΚΤΗΣΕΙ ΜΙΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΣΗΜΕΙΑΚΗ ΜΕΤΑΛΛΑΓΗ. ΤΟ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΟ ΤΟΥ PSTVD ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΕΙ ΜΕ ΑΥΤΟΝ ΤΟΝ ΤΡΟΠΟ ΔΙΑΜΟΛΥΝΕΙ ΤΟ ΦΥΤΟ ΤΟΥ ΚΑΠΝΟΥ (WASSENEGGER ET AL 1996). ΠΡΟΦΑΝΩΣ ΤΟ ΝΕΟ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΟ ΕΙΝΑΙ ΣΕ ΘΕΣΗ ΝΑ ΕΠΙΤΥΧΕΙ/ΑΠΟΦΥΓΕΙ ΚΑΠΟΙΟ ΓΕΓΟΝΟΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗΣ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΕΙΤΑΙ/ΕΜΠΟΔΙΖΕΙ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΤΟΥ. ΕΠΟΜΕΝΩΣ, ΜΕ ΚΑΠΟΙΕΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΘΟΥΝ ΟΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΕΝΟΣ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΜΕ ΚΑΠΟΙΟΝ ΝΕΟ ΞΕΝΙΣΤΗ. Η ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΩΝ ΙΟΕΙΔΩΝ ΠΙΘΑΝΟΤΑΤΑ ΣΥΝΤΙΘΕΤΑΙ ΑΠΟ ΑΛΛΕΠΑΛΛΗΛΑ ΤΕΤΟΙΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗΣ.

ΑΝ ΤΟ PSTVD ΩΣ ΕΧΕΙ, ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΣΕ ΘΕΣΗ ΝΑ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΕΙ ΤΟ ΜΟΡΙΑΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΤΟΤΕ ΙΣΩΣ ΝΑ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΕΙ ΑΠΟΚΤΩΝΤΑΣ ΚΑΠΟΙΕΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ. Η ΣΥΝΕΧΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΤΟΥ PSTVD CDNA ΔΗΜΙΟΥΡΓΕΙ ΕΝΑΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΑΠΟ PSTVD RNA ΜΕΣΑ ΣΤΟΝ ΟΠΟΙΟ ΘΑ ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΔΙΑΦΟΡΑ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΑ ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΙ ΑΠΟ «ΕΣΦΑΛΜΕΝΗ» ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ. ΑΝ ΤΑ RNA ΤΟΥ ΑΓΡΙΟΥ ΤΥΠΟΥ, ΤΑ «ΣΩΣΤΑ» RNA, ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΣΕ ΘΕΣΗ ΝΑ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΟΥΝ ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ, ΤΟΤΕ ΙΣΩΣ ΝΑ ΜΠΟΡΟΥΝ ΤΑ «ΕΣΦΑΛΜΕΝΑ». ΔΕΝ ΓΝΩΡΙΖΟΥΜΕ ΑΝ ΟΙ 16 ΩΡΕΣ ΚΑΙ ΟΙ 8 ΓΕΝΕΕΣ ΜΙΑΣ ΑΠΛΗΣ ΟΛΟΝΥΚΤΙΑΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΕΠΑΡΚΟΥΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΤΩΝ ΖΗΤΟΥΜΕΝΩΝ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΩΝ. Η ΣΥΝΕΧΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΓΙΑ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΕΣ ΜΕΡΕΣ ΠΡΟΦΑΝΩΣ ΘΑ ΑΥΞΗΣΕΙ ΤΙΣ ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΕΣ ΝΑ ΕΜΦΑΝΙΣΤΟΥΝ ΟΙ ΚΑΤΑΛΛΗΛΕΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ. ΤΟ ΑΝΑΠΑΡΑΓΟΜΕΝΟ RNA ΠΟΥ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΩΣ ΘΑ ΠΡΟΕΚΥΠΤΕ ΘΑ ΠΑΡΑΜΕΝΕ ΜΟΝΑΧΑ ΣΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΜΦΑΝΙΣΤΗΚΕ. ΕΑΝ ΩΣΤΟΣΟ ΣΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΠΑΡΕΜΒΛΗΘΟΥΝ ΑΛΛΕΠΑΛΛΗΛΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ ΣΥΖΕΥΞΗΣ, ΤΟΤΕ

ΔΙΝΕΤΑΙ Η ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑ ΣΕ ΕΝΑ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΣΕ ΚΑΠΟΙΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΝΑ ΜΕΤΑΔΟΘΕΙ ΟΡΙΖΟΝΤΙΩΣ ΚΑΙ ΕΤΣΙ ΝΑ ΔΙΑΔΟΘΕΙ ΣΤΟΝ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΜΕΝΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ.

ΔΥΟ ΕΙΔΗ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΕΥΡΕΩΣ ΣΤΗΝ ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ. ΕΓΙΝΕ ΜΙΑ ΔΟΚΙΜΗ ΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΕΙ ΩΣ ΞΕΝΙΣΤΗΣ ΓΙΑ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΡΣΤΥΔ Ο *SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE*, ΩΣΤΟΣΟ ΜΑΣ ΑΠΑΣΧΟΛΗΣΕ ΚΥΡΙΩΣ Ο *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ΤΟΥ ΟΠΟΙΟΥ ΗΤΑΝ ΔΙΑΘΕΣΙΜΑ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΚΑΙ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑ ΑΛΛΑ ΚΑΙ ΠΛΟΥΣΙΟΤΕΡΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ.

ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

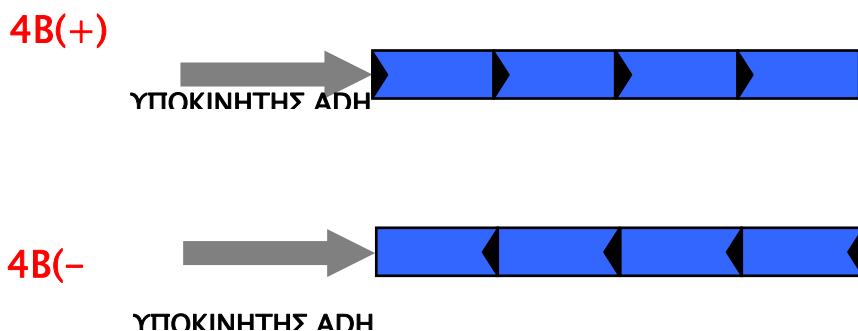
ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΜΟΡΦΗΣ ΤΟΥ PSTVD RNA

ΣΕ ΑΠΛΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΑΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

III.1 ΤΟ PSTVD ΣΕ ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ *SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE*

ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΔΙΑΠΙΣΤΩΘΕΙ ΑΝ Ο ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ PSTVD ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΙ ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ *S. POMBE*, ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ ΔΥΟ ΣΤΕΛΕΧΗ ΣΤΑ ΟΠΟΙΑ, ΜΕΣΩ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ, ΕΚΦΡΑΖΕΤΑΙ Η (+) ΚΑΙ Η (-) ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΑ ΓΡΑΜΜΙΚΗ ΤΕΤΡΑΜΕΡΗΣ ΜΟΡΦΗ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ PSTVD. ΣΤΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΑΥΤΑ ΕΛΕΓΘΗΚΕ ΑΝ ΕΚΤΟΣ ΑΠΟ ΤΟ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ, ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ ΚΑΙ ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ RNA ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΟΥ ΠΟΛΙΚΟΤΗΤΑΣ.

ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ PSTVD: ΕΝΑ ΤΜΗΜΑ CDNA ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΤΕΣΣΕΡΑ ΒΑΜΗΙ ΜΟΝΟΜΕΡΗ ΤΟΥ PSTVD ΕΙΣΗΧΘΗ ΣΤΟΝ ΦΟΡΕΑ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΑΝΤΙΤΥΠΩΝ PART1 Ο ΟΠΟΙΟΣ ΕΧΕΙ ΤΟΝ ΙΣΧΥΡΟ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ADH. ΤΟ ΕΝΘΕΜΑ ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΦΥΣΙΚΑ ΣΤΗΝ 3' ΠΛΕΥΡΑ ΤΟΥ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ, ΚΑΙ ΣΤΟΥΣ ΔΥΟ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΥΣ, ΚΑΙ ΟΙ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΑΝ ΟΝΟΜΑΖΟΝΤΑΙ 4B(+)-ART1 ΚΑΙ 4B(-)-ART1 (ΣΧΗΜΑ III.1).

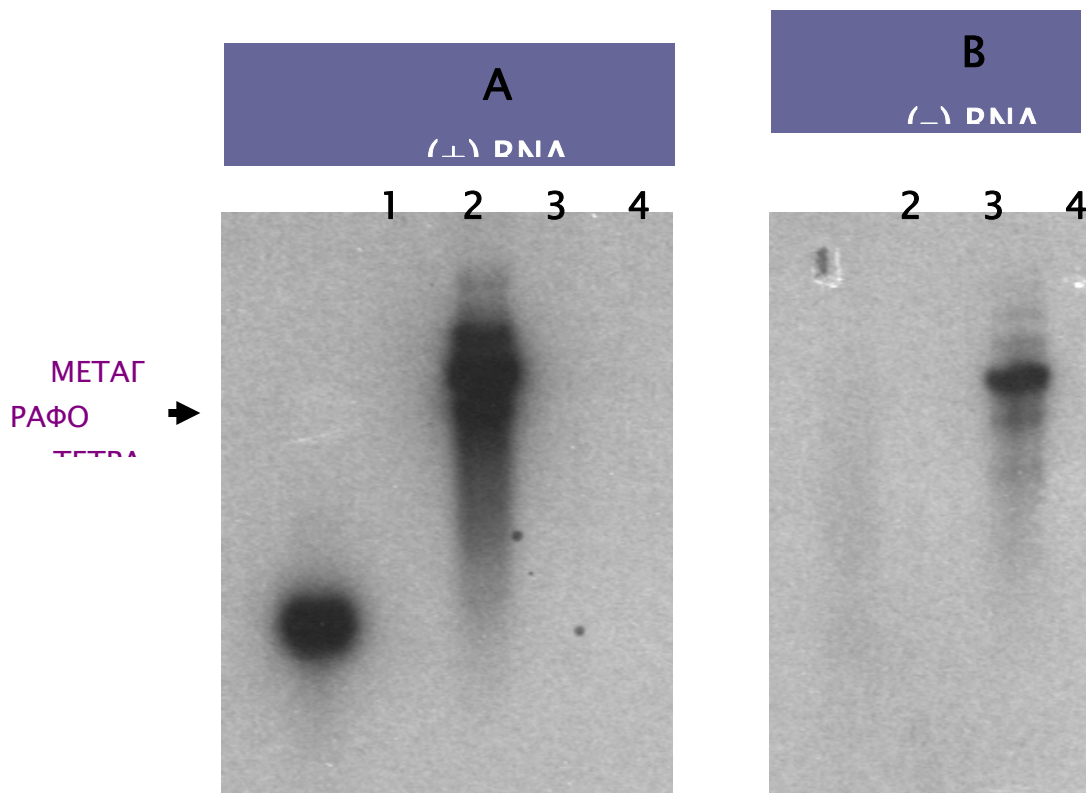


Σχημα III.1

ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ ΣΤΕΛΕΧΗ: ΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ SP184, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΗΤΑΝ ΑΜΕΣΑ ΔΙΑΘΕΣΙΜΟ ΚΑΙ ΕΙΧΕ ΤΗΝ ΚΑΤΑΛΛΗΛΗ ΑΥΞΟΤΡΟΦΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ, ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΗΚΕ ΜΕ ΚΑΘΕ ΜΙΑ ΑΠΟ ΑΥΤΕΣ ΤΙΣ ΔΥΟ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ, 4B(+)ART1 ΚΑΙ 4B(-)ART1, ΑΛΛΑ ΚΑΙ ΜΕ ΤΟΝ ΦΟΡΕΑ PART1.

ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ RNA: ΣΕ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΤΑ NORTHERN (ΕΙΚΟΝΑ III.1). ΩΣ ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΦΥΛΛΑ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ ΜΟΛΥΣΜΕΝΗΣ ΜΕ PSTVD. ΩΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ (+) ΚΑΙ (-) RNA ΤΟΥ PSTVD, ΠΟΥ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ ΜΕ *IN VITRO* ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ.

ΣΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΕΙ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 4B(+)ART1, ΥΠΑΡΧΕΙ ΤΟ ΟΛΙΓΟΜΕΡΕΣ (+) ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ (ΕΙΚΟΝΑ III.1, ΣΤΗΛΗ A3). ΔΕΝ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΟΜΩΣ, ΟΥΤΕ ΤΟ (+) ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ (A3) ΟΥΤΕ ΤΑ (-) ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ (B3). ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΑ, ΣΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΕΙ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 4B(-)ART1, ΥΠΑΡΧΕΙ ΤΟ ΟΛΙΓΟΜΕΡΕΣ (-) ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ (B4). ΔΕΝ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΟΜΩΣ, ΟΥΤΕ (+) ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ (A4) ΟΥΤΕ (+) ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ (A4). ΕΠΟΜΕΝΩΣ, ΣΤΟΝ *S. POMBE* ΔΕΝ ΠΑΡΑΤΗΡΗΘΗΚΕ ΜΕ ΑΥΤΗ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΟΥΤΕ Η ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ ΓΡΑΜΜΙΚΟΥ ΟΛΙΓΟΜΕΡΟΥΣ ΣΕ ΚΥΚΛΙΚΟ, ΟΥΤΕ Η ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΟΛΙΓΟΜΕΡΩΝ.





ΕΙΚΟΝΑ ΙΙ1.1

ΑΝΑΛΥΣΗ NORTHERN ΤΟΥ RNA ΑΠΟ ΤΡΙΑ ΣΤΕΛΕΧΗ *S. POMBE* ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ ΜΕ ΙΣΑΡΙΘΜΟΥΣ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟΥΣ ΦΟΡΕΙΣ

A: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (-) RNA.

B: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (+) RNA.

1: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΦΥΛΛΩΝ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ ΜΟΛΥΣΜΕΝΗΣ ΜΕ PSTVD.

2: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ *S. POMBE* ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟΥ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ PART1.

3: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ *S. POMBE* ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟΥ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 4B(+)ART1 ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ ΤΕΤΡΑΜΕΡΕΣ (+) RNA ΤΟΥ PSTVD.

4: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ *S. POMBE* ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟΥ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 4B(-)ART1 ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ ΤΕΤΡΑΜΕΡΕΣ (-) RNA ΤΟΥ PSTVD.

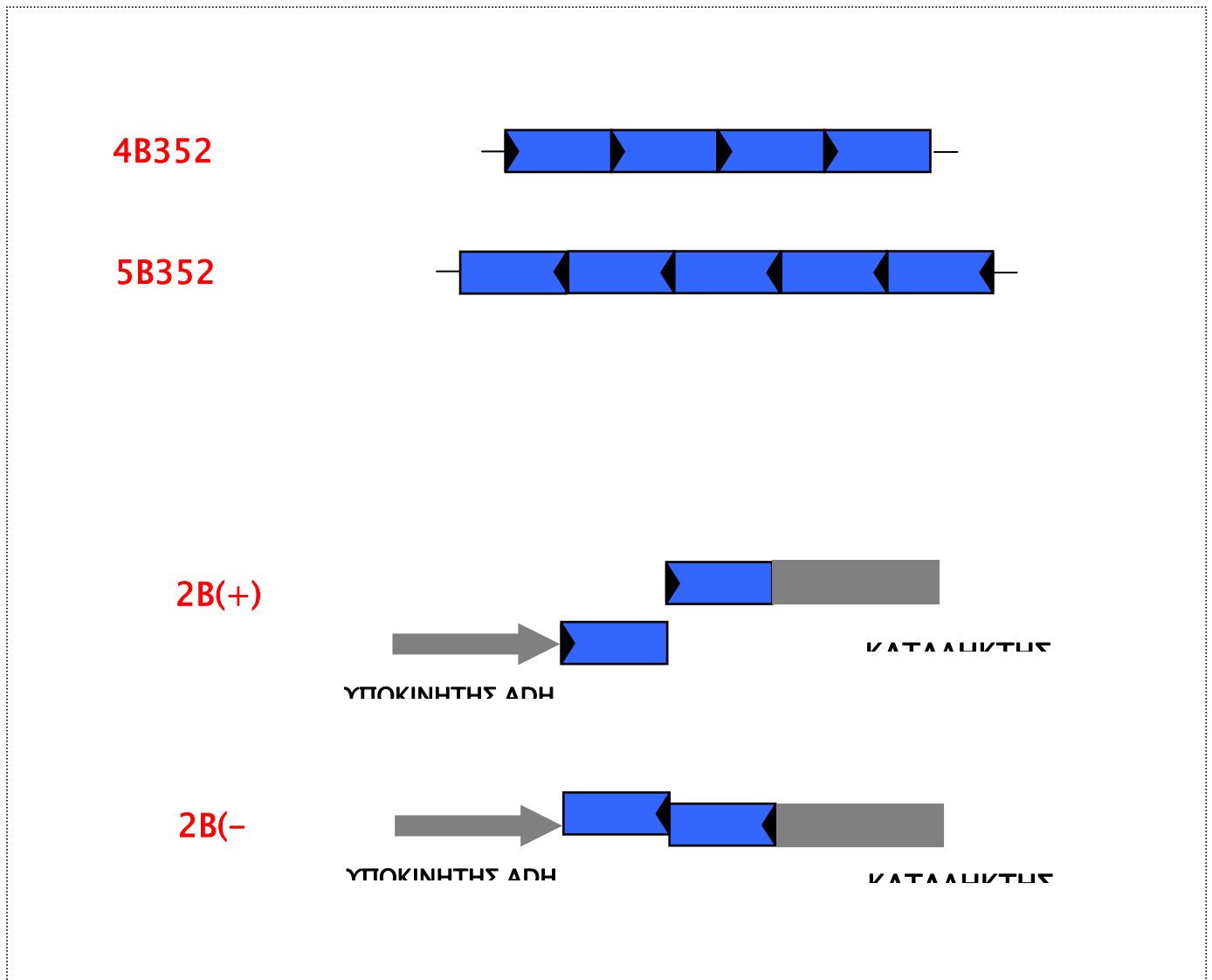
ΙΙ1.2 ΤΟ PSTVD ΣΕ WTLU ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

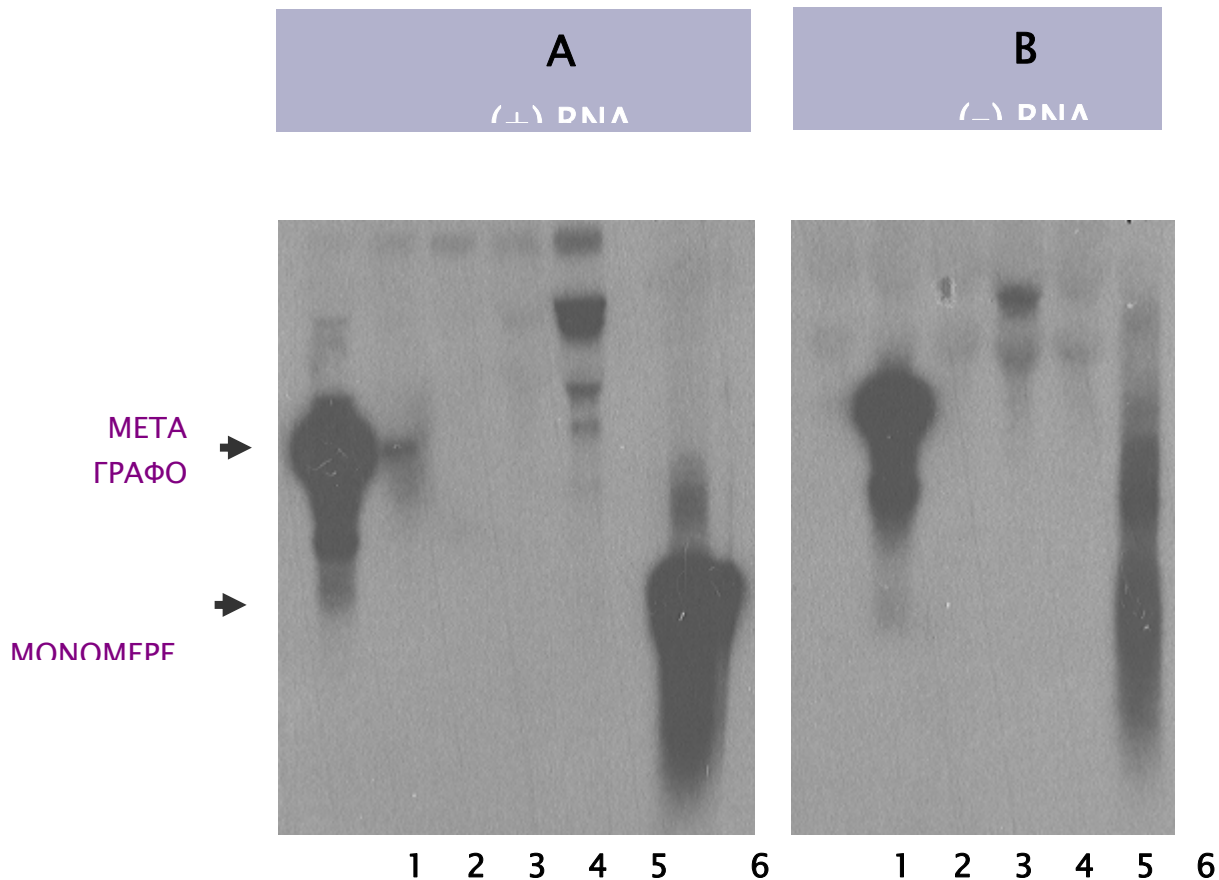
ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΤΟΥ PSTVD ΣΤΟΝ *S. CEREVISIAE* ΕΓΙΝΑΝ ΔΥΟ ΖΕΥΓΗ ΑΠΟ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ.

ΤΟ ΕΝΑ ΣΤΟΝ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟ ΦΟΡΕΑ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΑΝΤΙΤΥΠΩΝ PDB20, Ο ΟΠΟΙΟΣ ΕΧΕΙ ΤΟΝ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΚΑΙ ΤΟΝ ΚΑΤΑΛΗΚΤΗ ADH ΓΙΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΑΠΟ ΤΗΝ RNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ II, ΤΟ ΑΛΛΟ ΣΤΟΝ ΦΟΡΕΑ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΑΝΤΙΤΥΠΩΝ YEP352 ΠΟΥ ΔΕΝ ΕΧΕΙ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ.

ΕΝΑ ΤΜΗΜΑ CDNA ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΕΝΑ ΔΙΜΕΡΕΣ ΤΟΥ PSTVD ΕΙΣΗΧΘΗ ΣΤΟΝ ΦΟΡΕΑ PDB20, ΚΑΙ ΣΤΟΥΣ ΔΥΟ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΥΣ, ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟΝ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΚΑΤΑΛΗΚΤΗ. ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΙΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ 2B(+)DB20 ΚΑΙ 2B(-)DB20 (ΣΧΗΜΑ ΙΙ1.2). ΣΤΟΝ ΦΟΡΕΑ YEP352 ΕΙΣΗΧΘΗΚΑΝ ΕΝΑ ΤΕΤΡΑΜΕΡΕΣ ΚΑΙ ΕΝΑ ΠΕΝΤΑΜΕΡΕΣ ΣΕ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΟ ΣΧΕΤΙΚΟ

ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟ, ΚΑΙ ΠΡΟΕΚΥΨΑΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΑ ΟΙ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ 4B352 ΚΑΙ 5B352. Η ΚΑΘΕ ΜΙΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΤΕΣΣΕΡΙΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΕ ΤΟ ΑΠΛΟΕΙΔΕΣ ΣΤΕΛΕΧΟΣ WTLU. Η ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΤΑ NORTHERN ΤΩΝ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ (ΕΙΚΟΝΑ ΙΙΙ.2Α) ΕΓΙΝΕ ΟΠΩΣ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΩΣ.





ΕΙΚΟΝΑ ΙΙΙ.2α

ΑΝΑΛΥΣΗ NORTHERN ΤΟΥ RNA ΑΠΟ 5 ΣΤΕΛΕΧΗ *S.CEREVISIAE* WTLU ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ ΜΕ ΙΣΑΡΙΘΜΟΥΣ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟΥΣ ΦΟΡΕΙΣ ΤΟΥ PSTVD CDNA.

A: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (-) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

B: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (+) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

1: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(+)-DB20, ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ ΔΙΜΕΡΕΣ PSTVD (+) RNA.

2: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(-)-DB20, ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ ΔΙΜΕΡΕΣ PSTVD (-) RNA.

3: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ PDB20.

4: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 4B352, ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΙ CDNA ΤΕΤΡΑΜΕΡΟΥΣ PSTVD.

5: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 5B352, ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΙ CDNA ΠΕΝΤΑΜΕΡΟΥΣ PSTVD ΣΕ ΑΝΤΙΘΕΤΟ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟ ΑΠΟ ΟΤΙ ΤΟ 4B352.

6: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΦΥΛΛΩΝ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ ΜΟΛΥΣΜΕΝΗΣ ΜΕ PSTVD.

ΟΙ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ 4B352 ΚΑΙ 5B352 ΧΡΗΣΙΜΕΥΟΥΝ ΣΤΟ ΝΑ ΔΙΑΠΙΣΤΩΘΕΙ ΑΝ ΤΟ PSTVD ΕΝΘΕΜΑ ΔΙΑΘΕΤΕΙ ΑΠΟ ΜΟΝΟ ΤΟΥ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ. ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΥΤΗ ΘΑ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ PSTVD ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ ΙΔΙΑΣ ΠΟΛΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΔΥΟ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ. ΚΑΤΙ ΤΕΤΟΙΟ ΔΕΝ ΠΑΡΑΤΗΡΗΘΗΚΕ (ΕΙΚΟΝΑ ΙΙ1.2). ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΚΑΠΟΙΑ ΜΕΓΑΛΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΟΜΩΣ ΕΙΝΑΙ (-) ΠΟΛΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΟ 4B352 (B4) ΚΑΙ (+) ΣΤΟ 5B352 (A5) ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΕ ΚΑΠΟΙΟΝ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ ΥΕΡ352 ΠΡΟΣ ΤΗΝ 3' ΠΛΕΥΡΑ ΤΩΝ ΕΝΘΕΜΑΤΩΝ.

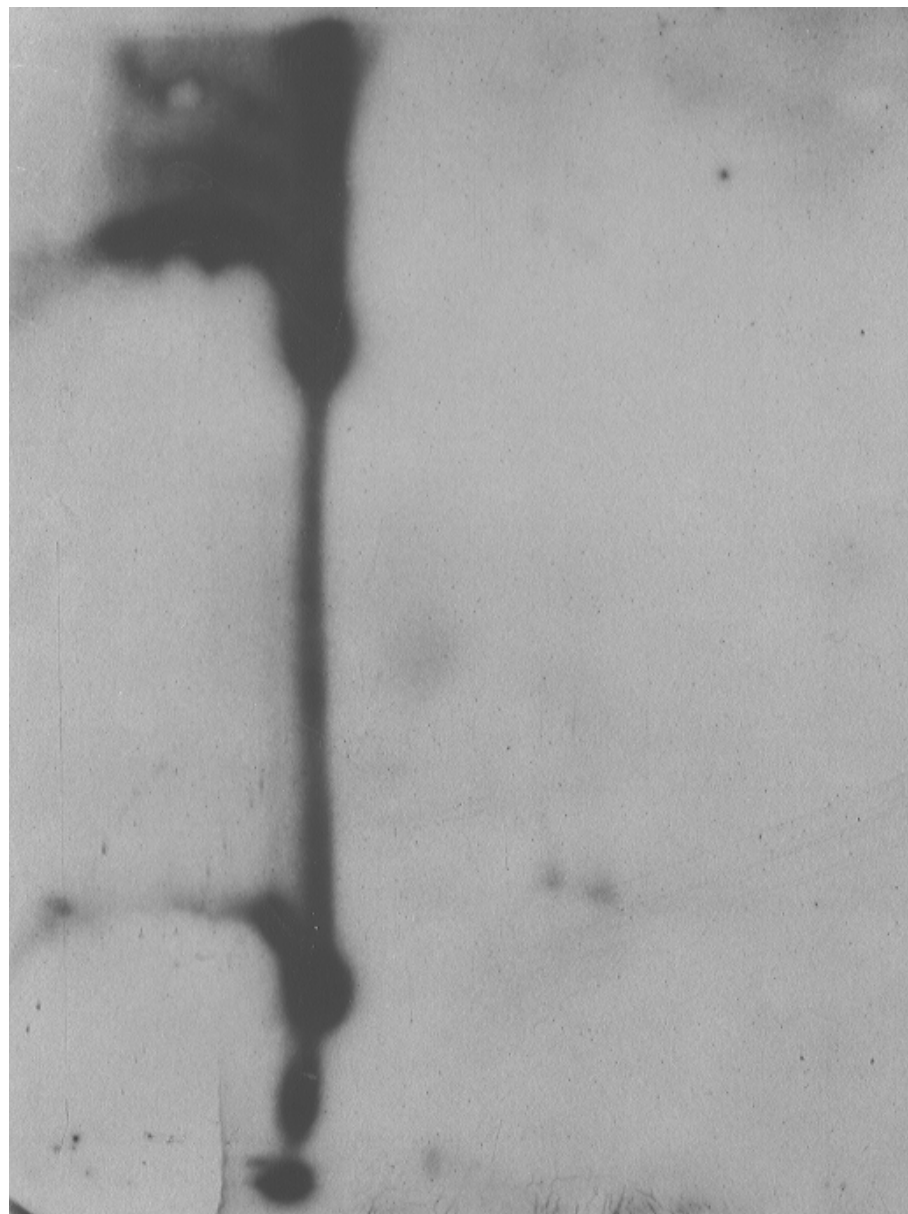
ΣΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΟΥ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΗΚΑΝ ΜΕ ΤΑ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑ 2B(+)_{DB20} ΚΑΙ 2B(-)_{DB20}, ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΑ ΤΟ (+) ΚΑΙ ΤΟ (-) ΔΙΜΕΡΕΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ (A1, B2), ΔΙΧΩΣ ΝΑ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ RNA ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΠΟΛΙΚΟΤΗΤΑΣ, ΔΗΛ. ΤΟ (-) ΚΑΙ ΤΟ (+) ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ (A2, B1). ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΣΤΟΝ *S. CEREVISIAE* ΤΑ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΟΛΙΓΟΜΕΡΗ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ PSTVD ΔΕΝ ΑΝΤΙΓΡΑΦΟΝΤΑΙ. ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΔΥΟ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ, ΕΚΤΟΣ ΑΠΟ ΤΟ ΔΙΜΕΡΕΣ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΚΑΙ ΜΙΑ ΜΙΚΡΟΤΕΡΗ ΜΟΡΦΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟΥ, ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΩΣ ΠΡΟΙΟΝ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΗΣ ΕΝΑΡΞΗΣ Η ΠΡΩΙΜΗΣ ΛΗΞΗΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ (A1, B2).

ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ 2B(+)_{DB20}, ΤΟ ΣΗΜΑ ΕΠΕΚΤΕΙΝΕΤΑΙ ΣΕ ΑΚΟΜΗ ΜΙΚΡΟΤΕΡΑ ΜΕΓΕΘΗ (A1), ΩΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΜΟΝΟΜΕΡΟΥΣ PSTVD (A6). ΑΠΟ ΑΥΤΟ ΤΟ ΠΕΙΡΑΜΑ ΔΕΝ ΜΠΟΡΟΥΜΕ ΝΑ ΓΝΩΡΙΖΟΥΜΕ ΑΝ ΑΥΤΑ ΤΑ ΜΟΡΙΑ ΕΙΝΑΙ ΓΡΑΜΜΙΚΑ Η ΚΥΚΛΙΚΑ, ΔΙΟΤΙ ΚΑΙ ΤΑ ΔΥΟ ΘΑ ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΝ ΣΤΗΝ ΙΔΙΑ ΘΕΣΗ. ΕΠΡΕΠΕ ΝΑ ΔΙΑΠΙΣΤΩΘΕΙ ΑΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΚΥΚΛΙΚΟ ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ ΔΙΟΤΙ Η ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΟΥ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟΥ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(+)_{DB20}, ΘΑ ΣΗΜΑΙΝΕ ΟΤΙ ΤΟ (+) ΓΡΑΜΜΙΚΟ ΔΙΜΕΡΕΣ ΜΕ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΠΑΡΑΓΕΙ ΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ. ΓΙΑ ΤΟΝ ΛΟΓΟ ΑΥΤΟ, ΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΕ ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ. ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΑΥΤΗ ΤΑ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΜΕΓΕΘΩΝ RNA ΔΙΑΧΩΡΙΖΟΝΤΑΙ ΣΕ ΚΥΚΛΙΚΑ ΚΑΙ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΟΝΤΑΙ ΞΕΧΩΡΙΣΤΑ (ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΚΑΙ ΣΧΗΜΑ ΥΠΑΡΧΕΙ ΣΤΗ ΣΕΛΙΔΑ 138, ΣΤΟ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΜΕ ΤΙΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ). ΕΤΣΙ ΓΙΑ ΚΑΘΕ RNA ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ, ΔΙΑΠΙΣΤΩΝΟΥΜΕ ΑΝ ΕΙΝΑΙ ΓΡΑΜΜΙΚΟ Η ΚΥΚΛΙΚΟ, Η ΑΚΟΜΗ ΚΑΙ ΜΙΓΜΑ ΓΡΑΜΜΙΚΟΥ ΚΑΙ ΚΥΚΛΙΚΟΥ. ΤΟ ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ PSTVD ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΤΟΥ ΜΟΛΥΣΜΕΝΟΥ ΦΥΤΟΥ (A6) ΕΙΝΑΙ ΜΙΓΜΑ ΓΡΑΜΜΙΚΟΥ ΚΑΙ ΚΥΚΛΙΚΟΥ RNA. ΟΤΑΝ ΤΟ ΙΔΙΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΥΠΟΒΑΛΕΤΑΙ ΣΕ ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ (ΕΙΚΟΝΑ ΙΙ1.2Β), ΔΙΑΧΩΡΙΖΟΝΤΑΙ ΤΟ ΚΥΚΛΙΚΟ ΑΠΟ ΤΟ ΓΡΑΜΜΙΚΟ ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ PSTVD. ΑΝΤΙΘΕΤΑ, ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΤΟΥ *S. CEREVISIAE*, ΜΟΝΟ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΜΟΡΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΘΗΚΑΝ (ΕΙΚΟΝΑ ΙΙ1.2Γ). ΠΡΟΦΑΝΩΣ ΤΟ ΣΗΜΑ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΣΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ ΤΟΥ ΜΟΝΟΜΕΡΟΥΣ ΣΤΟ NORTHERN (ΕΙΚΟΝΑ ΙΙ1.2Α, Α1) ΟΦΕΙΛΕΤΑΙ ΣΕ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΚΑΙ ΟΧΙ ΣΕ ΚΥΚΛΙΚΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ. ΕΠΟΜΕΝΩΣ, ΔΕΝ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ (+) ΔΙΜΕΡΟΥΣ RNA ΤΟΥ PSTVD ΣΕ ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ ΚΥΚΛΙΚΟ.

ΓΡΑΜ
ΜΙΚΑ

ΚΥΚΛ
ΙΚΟ
ΜΟΝΟΜΕΡΕ

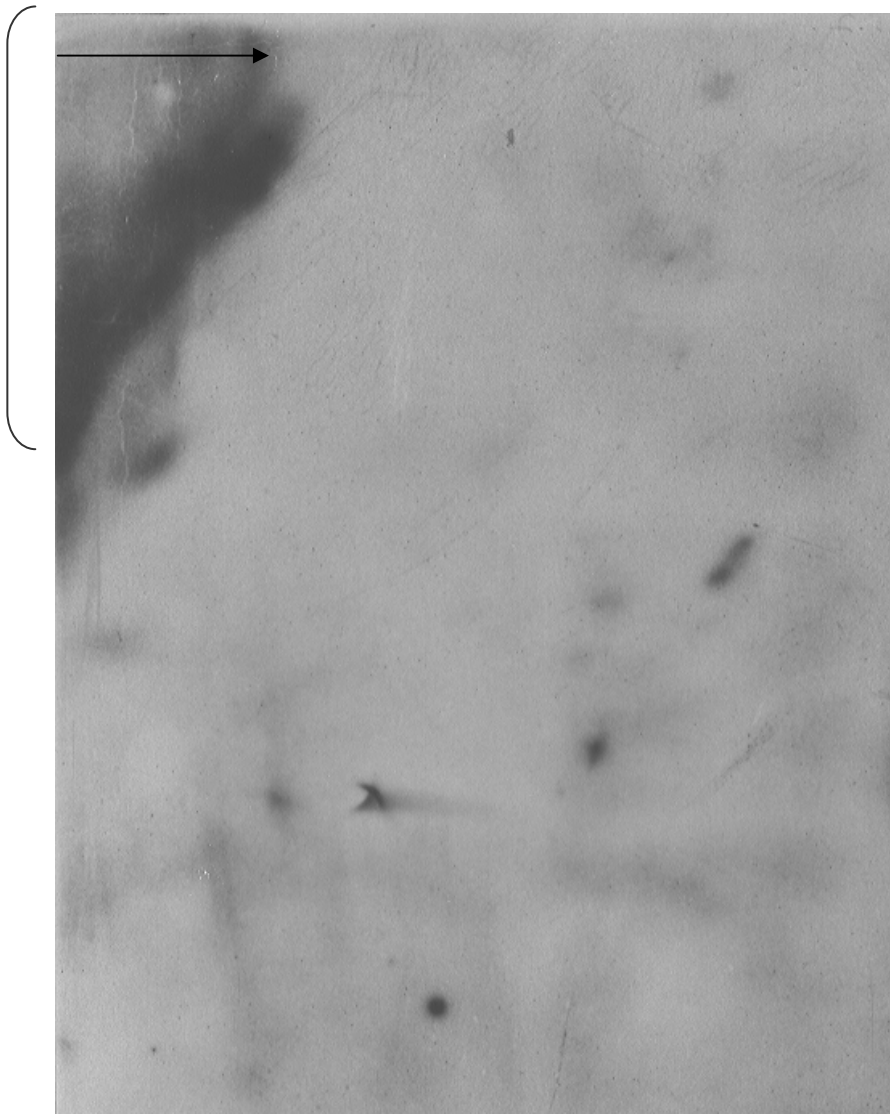


2H

1H

ΕΙΚΟΝΑ ΙΙΙ.2β

ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ RNA ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΦΥΛΛΑ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΜΟΛΥΣΜΕΝΗ ΜΕ PSTVD. Ο ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΕΧΕΙ ΓΙΝΕΙ ΜΕ PSTVD (-) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ. ΤΑ ΒΕΛΗ ΔΕΙΧΝΟΥΝ ΤΗΝ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΤΩΝ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΕΩΝ.



1^H

2^H

ΕΙΚΟΝΑ ΙΙΙ.2γ

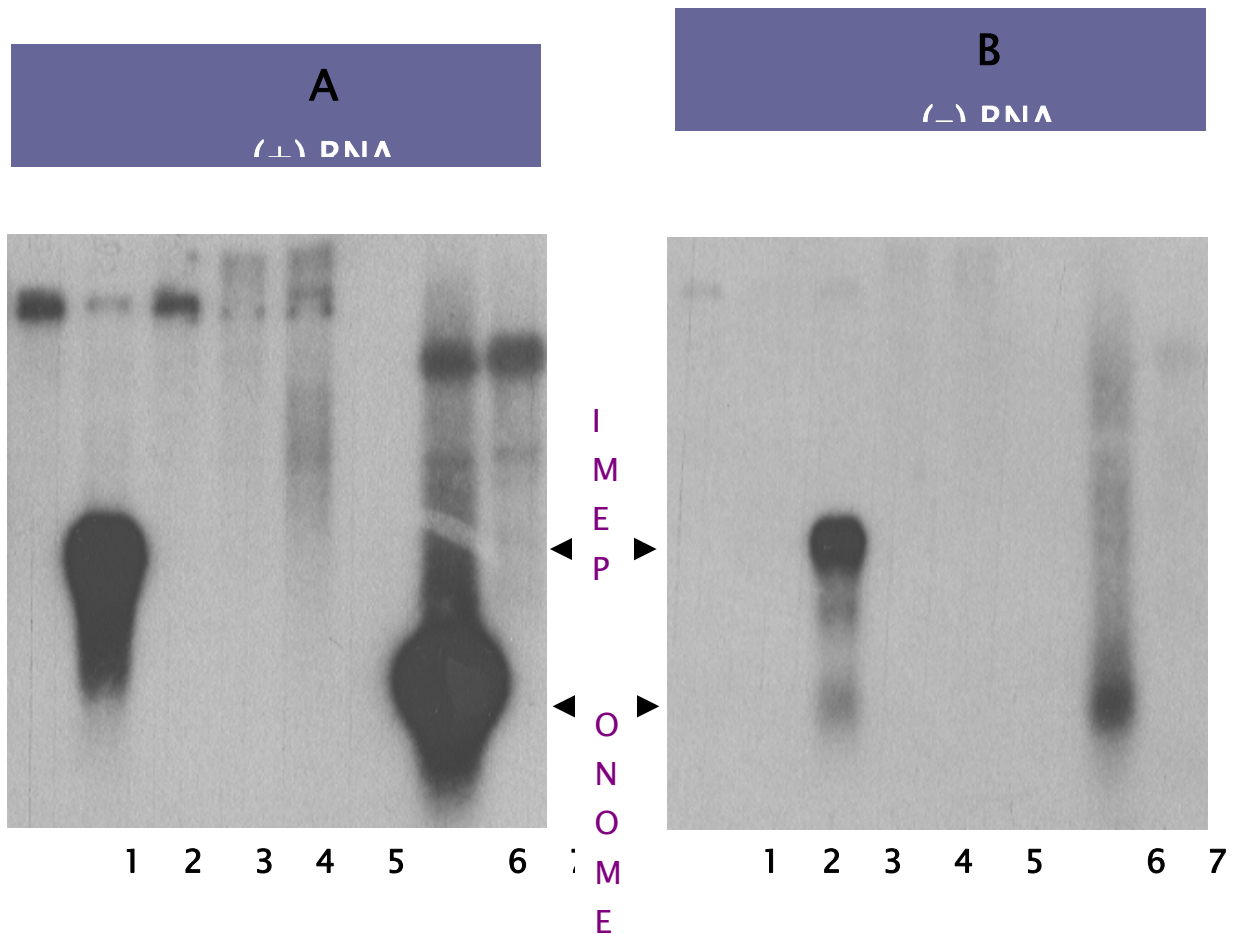
Δισδιάστατη ανάλυση του RNA εκχυλισματος από απλοειδή κυττάρων WTlu μετασηματισμένα με το πλασμίδιο 2B(+)**DB20**. Ο υβριδισμός έχει γίνει με PSTVd (-) RNA ανιχνευτή. Τα βέλη δείχνουν την κατεύθυνση των ηλεκτροφορήσεων.

III.3 ΤΟ PSTVD ΣΕ WTLU×FY105 ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ *S. CEREVISIAE*

ΑΦΟΥ ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ ΣΤΑΔΙΑ ΤΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ PSTVD ΔΕΝ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΣΤΑ ΑΠΛΟΕΙΔΗ WTLU ΚΥΤΤΑΡΑ *S. CEREVISIAE*, ΠΡΟΧΩΡΗΣΑΜΕ ΣΕ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ, ΠΡΟΣΘΕΤΟΝΤΑΣ ΜΑΛΙΣΤΑ ΤΟ ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ ΕΝΟΣ ΑΛΛΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ, ΤΟΥ FY105. ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΑ, ΤΑ WTLU ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΟΥ ΕΙΧΑΝ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΕΙ ΜΕ ΤΙΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ 4B352, 5B352, 2B(+)_{DB20} ΚΑΙ

2B(-)_{DB20}, ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΘΗΚΑΝ ΜΕ ΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ FY105, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΧΕΙ ΤΙΣ ΚΑΤΑΛΛΗΛΕΣ ΑΥΞΟΤΡΟΦΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΩΝ ΔΙΠΛΟΕΙΔΩΝ. ΣΤΑ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΑΝ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΤΑ NORTHERN (ΕΙΚΟΝΑ III.3) ΟΠΩΣ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΩΣ.

ΜΟΝΟ ΤΑ ΕΚΑΣΤΟΤΕ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ (+) ΚΑΙ (-) ΔΙΜΕΡΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ ΑΝΙΧΝΕΥΟΝΤΑΙ (A2, B3). ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΤΑ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ WTLU Χ FY105 ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΦΕΡΟΝΤΑΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΑΠΟ ΟΤΙ ΤΑ ΑΠΛΟΕΙΔΗ WTLU.



Εικονα II1.3

ΑΝΑΛΥΣΗ NORTHERN ΤΟΥ RNA ΑΠΟ 5 ΣΤΕΛΕΧΗ *S.CEREVISIAE* ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ WTLU×FY105 ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ ΜΕ ΙΣΑΡΙΘΜΟΥΣ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟΥΣ ΦΟΡΕΙΣ

A: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (-) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

B: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (+) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

1: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ PDB20.

2: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(+)DB20, ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ ΔΙΜΕΡΕΣ PSTVD (+) RNA.

3: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(-)DB20, ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ ΔΙΜΕΡΕΣ PSTVD (-) RNA.

4: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 4B352, ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΙ CDNA ΤΕΤΡΑΜΕΡΟΥΣ PSTVD.

5: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 5B352, ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΙ CDNA ΠΕΝΤΑΜΕΡΟΥΣ PSTVD ΣΕ ΑΝΤΙΘΕΤΟ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟ ΑΠΟ ΤΟ 4B352.

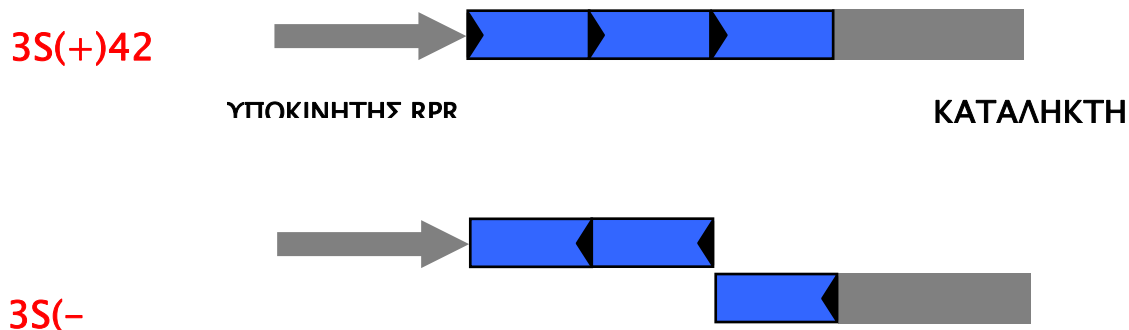
6: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΦΥΛΛΩΝ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ ΜΟΛΥΣΜΕΝΗΣ ΜΕ PSTVD.

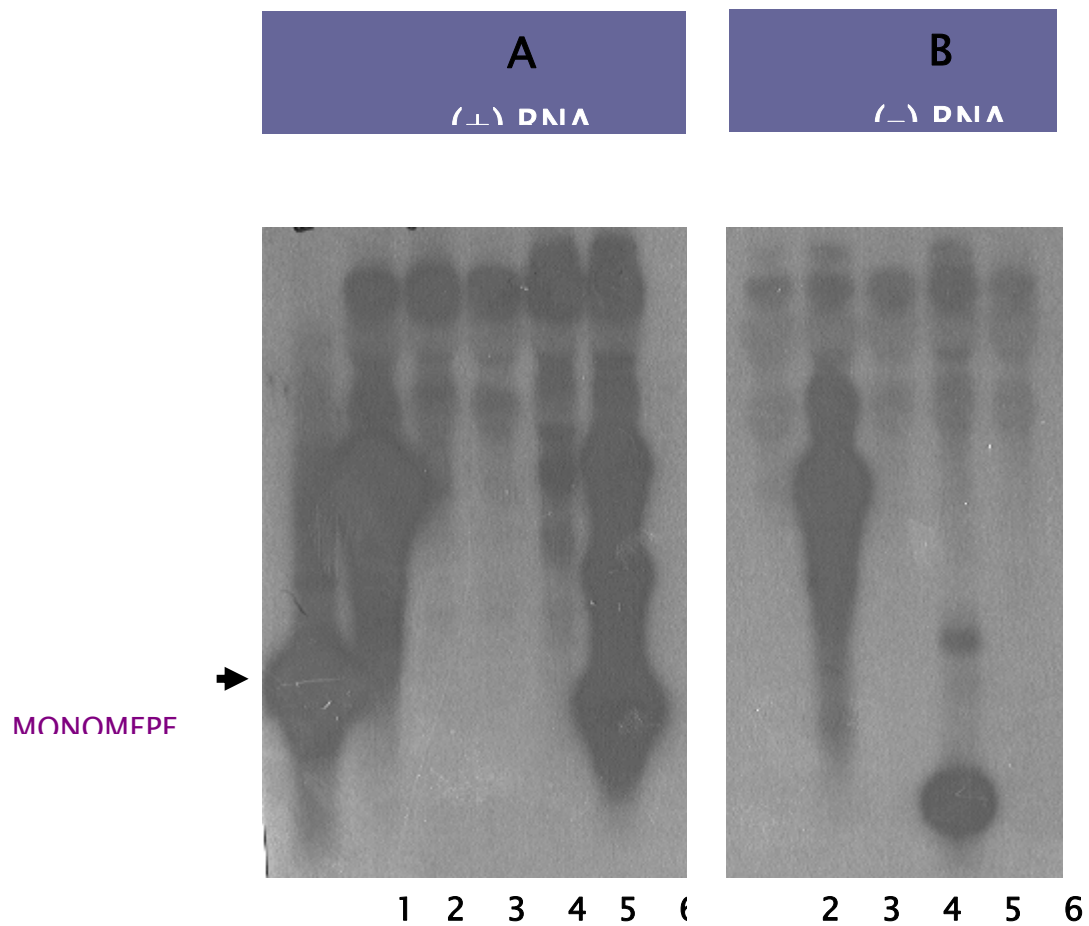
7: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΦΥΛΛΩΝ ΜΗ ΜΟΛΥΣΜΕΝΗΣ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ.

III.4 ΤΟ PSTVD ΣΕ DKB196 ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ *S. CEREVISIAE*

ΣΕ ΜΙΑ ΤΕΛΕΥΤΑΙΑ ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΑ ΝΑ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΟΥΜΕ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΤΟΥ PSTVD ΣΕ ΑΠΛΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ *S. CEREVISIAE* ΑΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΔΟΚΙΜΑΣΑΜΕ ΕΝΑ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΚΑΙ ΕΝΑ ΝΕΟ ΖΕΥΓΟΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΩΝ.

ΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΔΙΠΛΟΕΙΔΕΣ DKB196 ΕΝΩ ΟΙ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ ΕΓΙΝΑΝ ΕΤΣΙ ΩΣΤΕ Η ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΑΥΤΗ ΤΗΝ ΦΟΡΑ ΝΑ ΓΙΝΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ RNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ III (POLIII), ΤΗΣ ΟΠΟΙΑΣ ΤΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ ΠΑΡΑΜΕΝΟΥΝ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ. ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΤΟΥ ΦΥΤΙΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΕΙΤΑΙ Ο ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΟΥ PSTVD ΣΤΟ ΜΟΛΥΣΜΕΝΟ ΦΥΤΟ. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΓΙΑ ΤΟΝ ΛΟΓΟ ΑΥΤΟ Ο ΦΟΡΕΑΣ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΑΝΤΙΤΥΠΩΝ PIIIEX426RPR (GOOD AND ENGELKE 1994), Ο ΟΠΟΙΟΣ ΕΧΕΙ ΤΟΝ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΚΑΙ ΤΟΝ ΚΑΤΑΛΗΚΤΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ RPR1 (RNASE P RNA). ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟΝ ΥΠΟΚΙΝΗΤΗ ΚΑΙ ΤΟΝ ΚΑΤΑΛΗΚΤΗ ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ, ΚΑΙ ΣΤΟΥΣ ΔΥΟ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΥΣ, ΕΝΑ ΤΜΗΜΑ CDNA ΠΟΥ ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΕΝΑ ΤΡΙΜΕΡΕΣ PSTVD CDNA. ΠΡΟΕΚΥΨΑΝ ΟΙ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ 3S(+)_{426RPR} ΚΑΙ 3S(-)_{426RPR} (ΣΧΗΜΑ III.4). ΕΚΤΟΣ ΑΠΟ ΑΥΤΕΣ ΤΙΣ ΔΥΟ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ, ΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ DKB196 ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΗΚΕ ΚΑΙ ΜΕ ΤΙΣ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΕΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ, ΤΙΣ 2B(+)_{DB20} ΚΑΙ 2B(-)_{DB20} (ΣΕΛ. 101), ΣΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΥΠΑΡΧΕΙ POLII ΥΠΟΚΙΝΗΤΗΣ ΚΑΙ ΚΑΤΑΛΗΚΤΗΣ. ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΣΤΗ ΣΥΝΕΧΕΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΤΑ NORTHERN ΤΩΝ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ (ΕΙΚΟΝΑ III.4A).





ΕΙΚΟΝΑ III.4A

ΑΝΑΛΥΣΗ NORTHERN ΤΟΥ RNA ΑΠΟ 5 ΣΤΕΛΕΧΗ *S.CEREVISIAE* DKB196 (ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ) ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ ΜΕ ΙΣΑΡΙΘΜΟΥΣ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟΥΣ ΦΟΡΕΙΣ

A: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (-) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

B: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (+) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

1: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΦΥΛΛΩΝ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ ΜΟΛΥΣΜΕΝΗΣ ΜΕ PSTVD

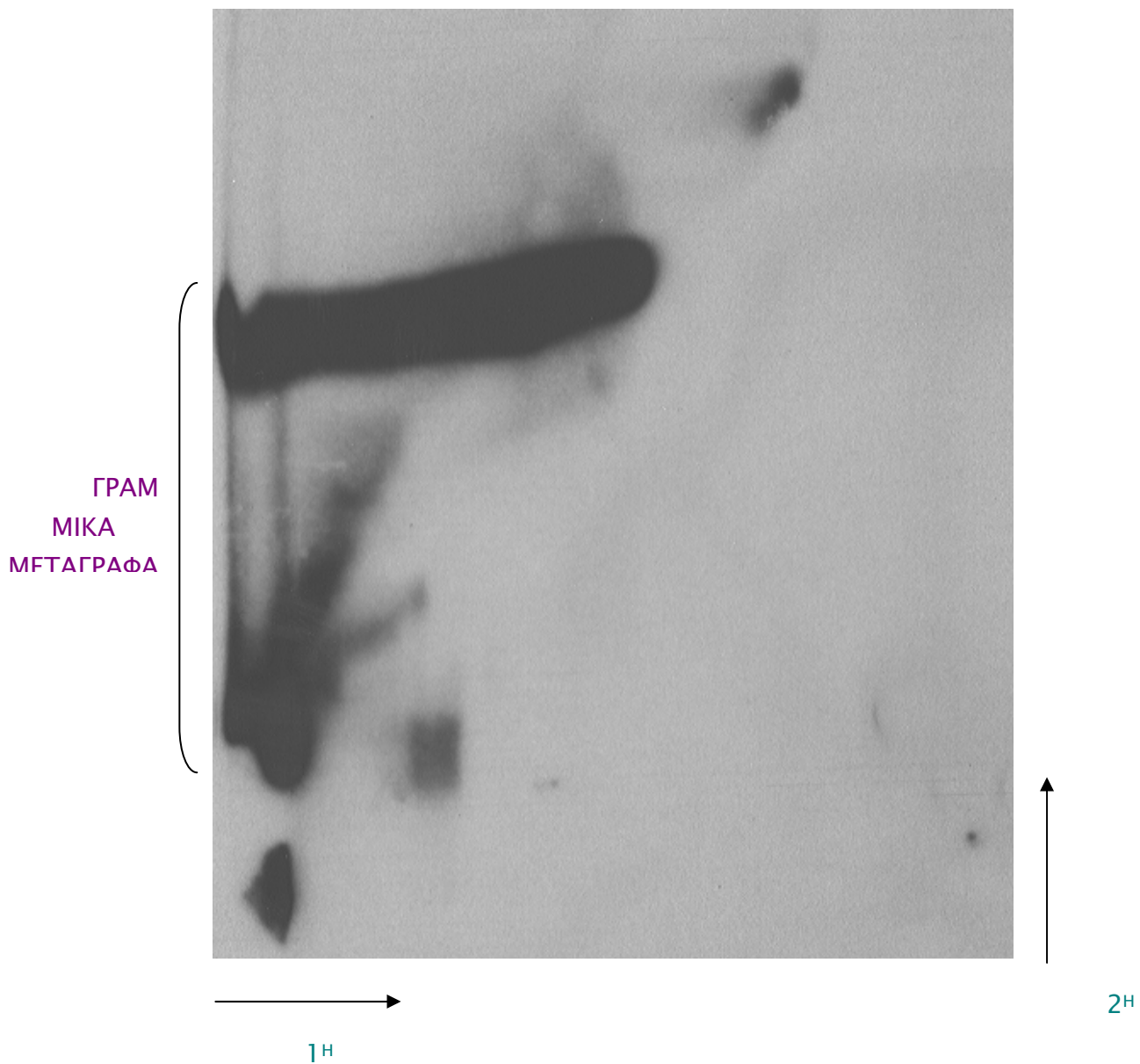
2: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(+)DB20, ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ (+) ΔΙΜΕΡΕΣ PSTVD ΡΟΛΙΙ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ.

3: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(-)DB20, ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ (-) ΔΙΜΕΡΕΣ PSTVD ΡΟΛΙΙ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ.

4: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ ΡΙΙΙΕΧ426RPR.

5: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 3S(-)426RPR, ΠΟΥ (ΔΕΝ) ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ (-) ΤΡΙΜΕΡΕΣ PSTVD ΡΟΛΙΙΙ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ.

6: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 3S(+)426RPR, ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ (+) ΤΡΙΜΕΡΕΣ PSTVD ΡΟΛΙΙΙ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ.



ΕΙΚΟΝΑ ΙΙΙ.4β

ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ RNA ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ DKB96 ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 3S(+)-426RPR. Ο ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΕΧΕΙ ΓΙΝΕΙ ΜΕ PSTVD (-) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ. ΤΑ ΒΕΛΗ ΔΕΙΧΝΟΥΝ ΤΗΝ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΤΩΝ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΕΩΝ.

ΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ DKB196 ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ ΜΕ ΤΑ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑ 2B(+)-DB20 ΚΑΙ 2B(-)-DB20 (ΕΙΚΟΝΑ ΙΙΙ.4Α, ΣΤΗΛΕΣ Α2, Α3, Β2, Β3) ΔΙΝΟΥΝ ΤΗΝ ΙΔΙΑ ΕΙΚΟΝΑ ΜΕ ΤΑ ΠΑΡΟΜΟΙΩΣ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ WTLU ΣΤΕΛΕΧΗ, ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΔΕΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΥΝ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝ ΚΑΙ ΔΕΝ ΑΣΧΟΛΗΘΗΚΑΜΕ ΑΛΛΟ ΜΕ ΑΥΤΑ.

Η ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΤΟΥ PSTVD RNA ΑΠΟ ΤΗΝ POLIII ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΙ ΤΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΤΗΣ ΠΡΩΙΜΗΣ ΛΗΞΗΣ ΕΞΑΙΤΙΑΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΚΑΤΑΛΗΚΤΙΚΩΝ ΣΗΜΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΗ ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ ΤΟΥ PSTVD CDNA (GOOD AND ENGELKE 1994). ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΑ, ΣΤΟΝ (+) ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟ ΥΠΑΡΧΕΙ ΜΙΑ ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ ΑΠΟ ΠΕΝΤΕ ΘΥΜΙΝΕΣ, ΜΕ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΣΤΟ 3S(+)-426RPR ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ Η ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΝΑ ΣΤΑΜΑΤΑ ΣΕ ΤΡΙΑ ΣΗΜΕΙΑ. ΕΤΣΙ ΕΚΤΟΣ ΑΠΟ ΤΟ ΤΡΙΜΕΡΕΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΔΙΜΕΡΕΣ ΚΑΙ ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ (Α6). ΣΤΟΝ (-) ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟ ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΕΞΙ ΘΥΜΙΔΙΝΕΣ ΠΟΥ ΣΤΑΜΑΤΟΥΝ ΣΧΕΔΟΝ ΟΛΟΚΛΗΡΩΤΙΚΑ ΤΗΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΤΟ (-) ΤΡΙΜΕΡΕΣ ΔΕΝ ΠΑΡΑΓΕΤΑΙ ΚΑΘΟΛΟΥ ΑΠΟ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 3S(-)-426RPR (Β5).

ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ 3S(+)-426RPR, ΣΤΗ ΘΕΣΗ ΠΟΥ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΕΙ ΣΤΟ ΜΟΝΟΜΕΡΕΣ (+) ΥΠΑΡΧΕΙ ΜΕΓΑΛΗ ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟΥ (Α6). ΓΙΑ ΝΑ ΔΟΥΜΕ ΑΝ ΣΕ ΑΥΤΟΝ ΤΟΝ ΜΟΡΙΑΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ, ΕΚΤΟΣ ΑΠΟ ΤΑ ΓΡΑΜΜΙΚΑ, ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΚΑΙ ΚΑΠΟΙΑ ΚΥΚΛΙΚΑ RNA, ΥΠΟΒΑΛΑΜΕ ΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΣΕ ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ (ΕΙΚΟΝΑ ΙΙΙ.4Β), ΟΜΩΣ ΜΟΝΟ ΓΡΑΜΜΙΚΟ RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ 1

ΣΤΑ ΠΑΡΑΠΑΝΩ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ Ο ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑΣ ΔΕΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΗΣΕ ΩΣ ΞΕΝΙΣΤΗΣ ΓΙΑ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ PSTVD. ΟΧΙ ΜΟΝΟ ΔΕΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΤΗΚΕ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ, ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΑΤΗΡΗΘΗΚΕ ΚΑΝ ΟΥΤΕ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΟΛΙΓΟΜΕΡΩΝ, ΟΥΤΕ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ (+) ΟΛΙΓΟΜΕΡΟΥΣ ΣΕ ΚΥΛΙΚΟ. ΑΥΤΟ ΣΗΜΑΙΝΕΙ ΟΤΙ ΕΙΤΕ ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΤΟ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ Η ΟΤΙ ΥΠΑΡΧΕΙ ΑΛΛΑ ΤΟ PSTVD RNA ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΣΕ ΘΕΣΗ ΝΑ ΤΟ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΕΙ. ΣΤΗ ΔΕΥΤΕΡΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ, Η ΜΟΡΙΑΚΗ

ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΠΙΘΑΝΟΤΑΤΑ ΘΑ ΑΠΟΚΑΘΙΣΤΑΤΟ ΜΕ ΚΑΠΟΙΕΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΟ PSTVD RNA. ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΑ RNA ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΛΟΓΩ ΤΩΝ ΛΑΘΩΝ ΣΤΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ. ΤΑ ΛΑΘΗ ΑΥΤΑ ΔΗΜΙΟΥΡΓΟΥΝ ΜΙΑ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΠΟΥ ΣΤΗΝ ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΘΑ ΜΠΟΡΟΥΣΕ ΙΣΩΣ ΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΤΗΝ ΠΡΩΤΗ ΥΛΗ ΓΙΑ ΑΥΤΟΕΠΙΛΟΓΗ ΕΝΟΣ RNA, ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΘΑ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΖΕΤΑΙ, ΕΧΟΝΤΑΣ ΕΠΙΤΥΧΕΙ ΝΑ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΕΙ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΣΤΟΝ ΝΕΟ ΞΕΝΙΣΤΗ. ΑΥΤΟ ΤΟ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΟ ΔΙΕΡΕΥΝΑΤΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΣΤΟ ΕΠΟΜΕΝΟ ΚΕΦΑΛΑΙΟ.

ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗΣ ΤΟΥ PSTVD ΣΤΟΝ *SACCHAROMYCES
CEREVISIAE*

II2.1 ΣΥΝΕΧΗΣ ΑΓΕΝΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΑΠΟ ΤΟ PSTVD CDNA ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ, ΑΝΑΜΦΙΒΟΛΑ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΙ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΑ PSTVD RNA ΕΞΑΙΤΙΑΣ ΤΩΝ ΛΑΘΩΝ ΤΗΣ RNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ. Η ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΩΣ ΥΛΙΚΟ ΓΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ PSTVD ΣΤΟΝ *S. CEREVISIAE*, ΚΑΘΩΣ ΚΑΠΟΙΟ ΜΕΤΑΓΡΑΦΟ ΙΣΩΣ ΣΥΝΤΕΘΕΙ ΜΕ ΕΝΑΝ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ ΠΟΥ ΘΑ ΕΠΙΤΡΕΠΕΙ ΣΤΟ RNA ΝΑ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΖΕΤΑΙ. ΟΣΟ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ ΣΥΜΒΑΙΝΟΥΝ ΤΟΣΟ ΑΥΞΑΝΕΤΑΙ Η ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ ΝΑ ΕΜΦΑΝΙΣΤΕΙ ΤΟ ΚΑΤΑΛΛΗΛΑ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΟ RNA.

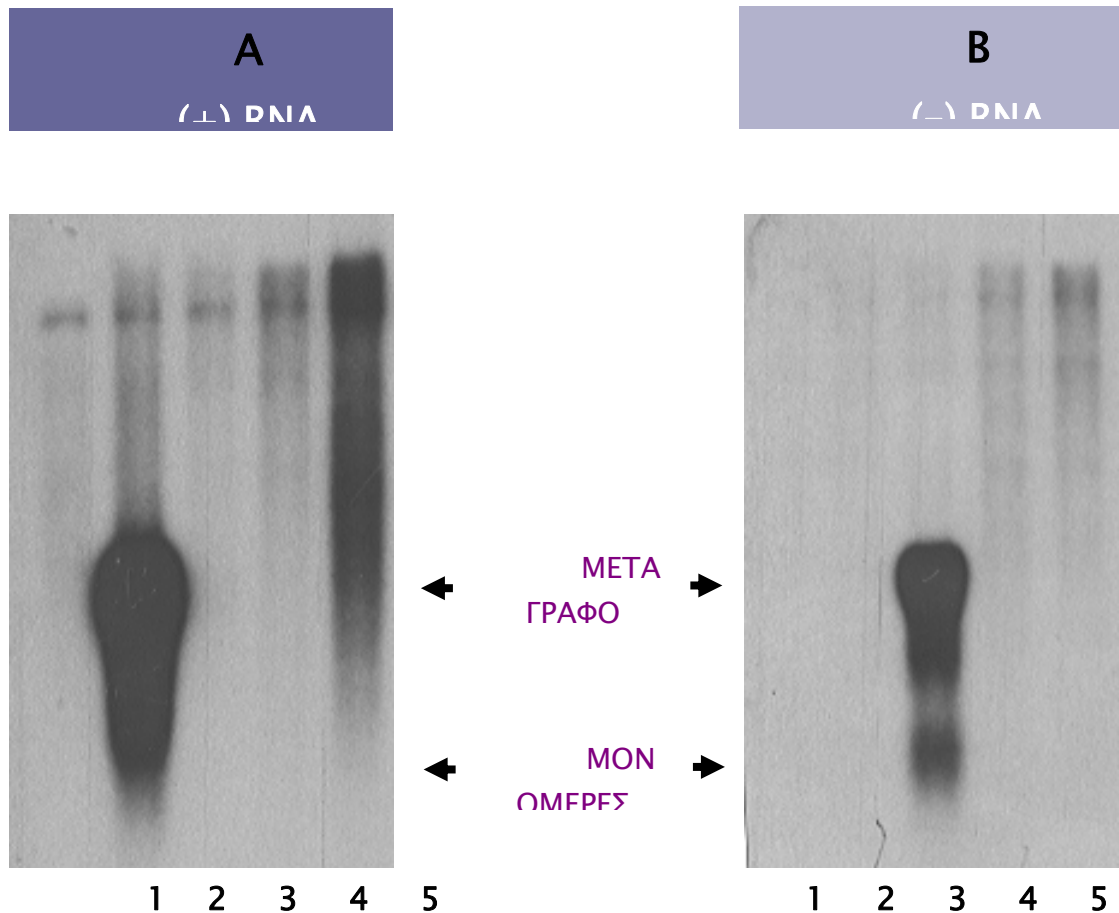
ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΔΟΘΕΙ ΣΤΟ PSTVD Η ΕΥΚΑΙΡΙΑ ΝΑ ΠΡΟΣΑΡΜΟΣΤΕΙ ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ, ΑΥΞΗΘΗΚΕ Ο ΧΡΟΝΟΣ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ. ΤΑ ΑΠΛΟΕΙΔΗ WTLU ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΟΥ ΕΙΧΑΝ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΕΙ ΜΕ ΤΑ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑ 4B352, 5B352, 2B(+)DB20 ΚΑΙ 2B(-)DB20 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΘΗΚΑΝ ΣΕ ΣΤΕΡΕΟ ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΜΕΣΟ. ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΡΕΙΣ ΜΕΡΕΣ Η ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΙΧΕ ΦΘΑΣΕΙ ΣΤΗΝ ΣΤΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ ΚΑΙ ΤΟΤΕ ΕΝΑ ΤΜΗΜΑ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΕΤΑΦΕΡΘΗΚΕ ΣΕ ΝΕΟ ΤΡΥΒΛΙΟ. Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΠΑΝΑΛΗΦΘΗΚΕ 5 ΦΟΡΕΣ. ΕΤΣΙ Ο ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΘΗΚΕ ΣΥΝΕΧΩΣ ΕΠΙ 18 ΗΜΕΡΕΣ. ΑΠΟ ΤΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΤΩΝ 18 ΗΜΕΡΩΝ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΕ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ RNA ΓΙΑ ΝΑ ΕΛΕΓΘΟΥΝ ΜΕ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΤΑ NORTHERN ΤΑ PSTVD RNA.

Η ΕΙΚΟΝΑ ΤΟΥ PSTVD RNA ΠΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΥΝ ΟΙ ΣΥΝΕΧΕΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ (ΕΙΚΟΝΑ II2.1A) ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΑΥΤΗΝ ΤΩΝ ΑΠΛΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ (ΕΙΚΟΝΑ III.2A). ΜΟΝΟ ΤΑ PSTVD (+) ΚΑΙ (-) ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΣΤΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ ΜΕ ΤΑ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑ 2B(+)DB20 ΚΑΙ 2B(-)DB20 (ΕΙΚΟΝΑ II2.1A, ΣΤΗΛΕΣ A2, B3).

ΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(+)DB20 ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΕ ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΓΙΑ ΝΑ ΔΙΑΠΙΣΤΩΘΕΙ ΑΝ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΜΟΡΙΑ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ ΤΟΥ ΜΟΝΟΜΕΡΟΥΣ ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΚΑΙ ΚΥΚΛΙΚΑ (ΕΙΚΟΝΑ II2.1B). ΕΝΑ ΠΟΛΥ ΕΝΤΟΝΟ ΚΑΙ ΕΚΤΕΤΑΜΕΝΟ ΣΗΜΑ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΣΤΗ ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΥΚΛΙΚΟΥ ΜΟΝΟΜΕΡΟΥΣ. Η ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΕΠΑΝΑΛΗΦΘΗΚΕ (ΕΙΚΟΝΑ II2.1Γ) ΜΕ ΤΟ ΙΔΙΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ RNA (2) ΚΑΙ ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ ΜΑΡΤΥΡΑ ΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΦΥΛΛΑ ΜΟΛΥΣΜΕΝΗΣ ΜΕ PSTVD ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ (1). ΠΗΡΑΜΕ ΤΟ ΙΔΙΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ. ΩΣΤΟΣΟ, ΟΤΑΝ ΤΑ ΔΥΟ

ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΘΗΚΑΝ ΣΕ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΔΙΠΛΗΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ (ΣΕΛΙΔΑ 138, ΤΕΧΝΙΚΕΣ), Η ΟΠΟΙΑ ΔΙΑΧΩΡΙΖΕΙ ΚΥΚΛΙΚΑ ΑΠΟ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΜΟΡΙΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ (ΕΙΚΟΝΑ ΙΙ2.1Δ), ΚΥΚΛΙΚΟ ΜΟΡΙΟ ΕΜΦΑΝΙΣΤΗΚΕ ΜΟΝΟ ΣΤΟ ΦΥΤΙΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ.ΤΟ ΙΔΙΟ ΣΥΝΕΒΗ ΚΑΙ ΟΤΑΝ ΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΘΗΚΑΝ ΣΕ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ ΠΗΚΤΩΜΑ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ (ΕΙΚΟΝΑ ΙΙ2.1Ε).

ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ ΔΥΟ ΝΕΑ RNA ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΟ 2B(+)_{DB20} ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΤΩΝ 18 ΗΜΕΡΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΘΗΚΑΝ ΑΠΕΥΘΕΙΑΣ ΜΕ ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ (ΕΙΚΟΝΑ ΙΙ2.1Ζ). ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ ΔΕΝ ΕΜΦΑΝΙΣΤΗΚΕ Η ΚΥΚΛΙΚΗ ΜΟΡΦΗ ΤΟΥ PSTVD.



ΕΙΚΟΝΑ ΙΙ2.1Α

ΑΝΑΛΥΣΗ NORTHERN ΤΟΥ RNA ΑΠΟ 5 ΣΤΕΛΕΧΗ *S.CEREVISIAE* WTLU ΑΠΛΟΕΙΔΗ, ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ, ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ ΜΕ ΙΣΑΡΙΘΜΟΥΣ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟΥΣ ΦΟΡΕΙΣ ΤΟΥ PSTVD CDNA.

A: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (-) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

B: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (+) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΑΠΟ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ ΣΤΕΛΕΧΗ

1: ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ PDB20.

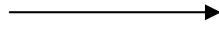
2: ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(+)DB20, ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ ΔΙΜΕΡΕΣ PSTVD (+) RNA.

3: ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(-)DB20, ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ ΔΙΜΕΡΕΣ PSTVD (-) RNA.

4: ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 4B352, ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΙ CDNA ΤΕΤΡΑΜΕΡΟΥΣ PSTVD.

5: ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 5B352, ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΙ CDNA ΠΕΝΤΑΜΕΡΟΥΣ PSTVD ΣΕ ΑΝΤΙΘΕΤΟ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟ ΑΠΟ ΤΟ 4B352.





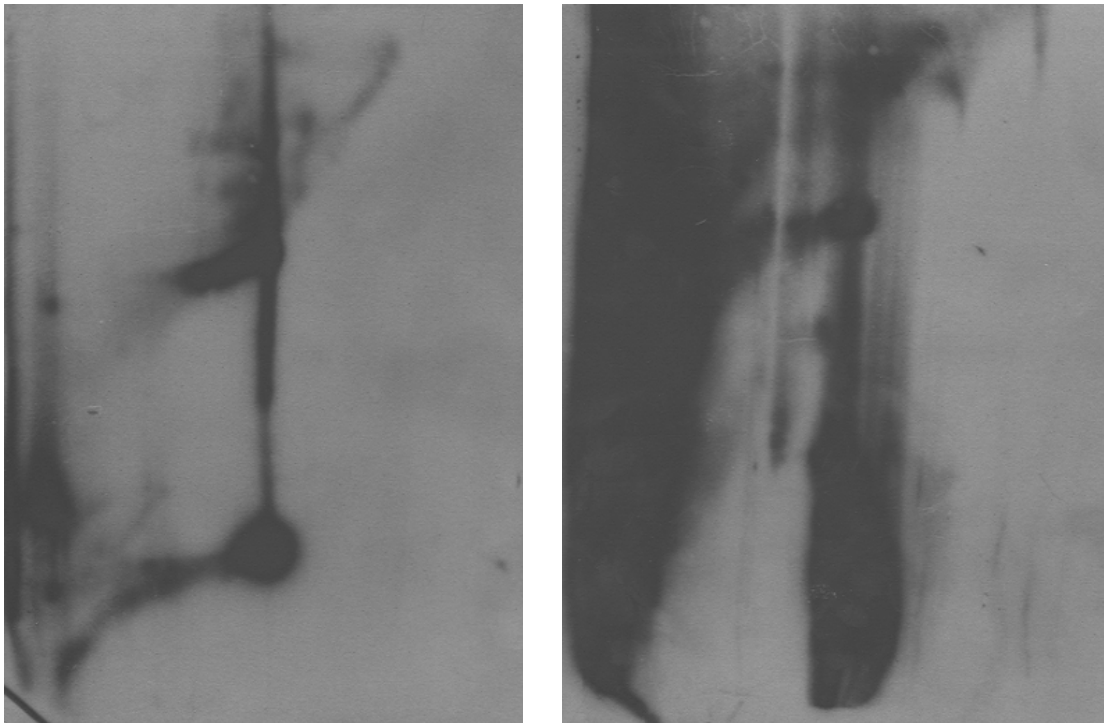
1^η

2^η

ΕΙΚΟΝΑ ΙΙ2.1β

ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ RNA ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ WTLU ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(+)^{DB20}. ΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΕΧΕΙ ΥΠΟΒΛΗΘΕΙ ΣΕ ΣΥΝΕΧΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ 18 ΗΜΕΡΩΝ.

Ο ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΕΧΕΙ ΓΙΝΕΙ ΜΕ PSTVD (-) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ. ΤΑ ΒΕΛΗ ΔΕΙΧΝΟΥΝ ΤΗΝ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΤΩΝ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΕΩΝ.



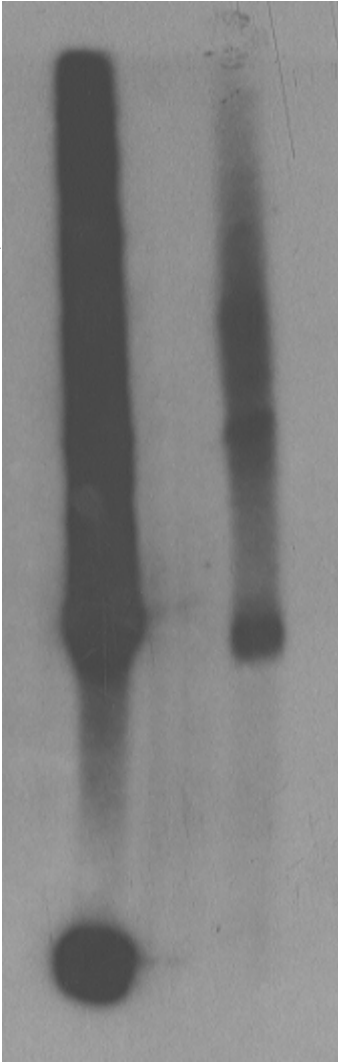
ΕΙΚΟΝΑ II2.1Γ

ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΑΝΑΛΥΣΗ RNA ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ:

1. ΑΠΟ ΦΥΛΛΑ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΜΟΛΥΝΘΕΙ ΜΕ PSTVD
2. ΑΠΟ ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ WTLU ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(+)DB20. ΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΕΧΕΙ ΥΠΟΒΛΗΘΕΙ ΣΕ ΣΥΝΕΧΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ 18 ΗΜΕΡΩΝ.

Ο ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΕΧΕΙ ΓΙΝΕΙ ΜΕ PSTVD (-) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

ΓΡΑΜ
ΜΙΚΑ
ΜΟΝΟΜΕΡΗ



ΕΙΚΟΝΑ ΙΙ2.1Δ

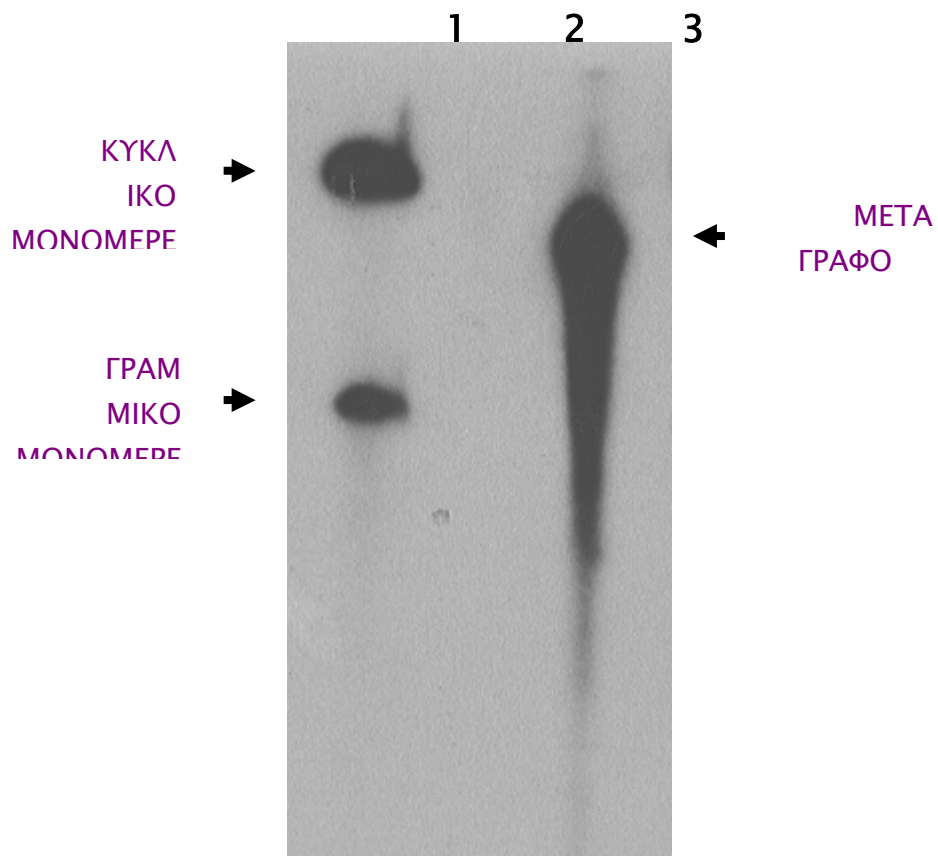
ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΠΛΗΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ RNA ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ

1: ΑΠΟ ΦΥΛΛΑ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΜΟΛΥΝΘΕΙ ΜΕ PSTVD

2: ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΑΠΛΟΕΙΔΟΥΣ WTLU ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΕΙ ΜΕ PDB20

3: ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΑΠΛΟΕΙΔΟΥΣ WTLU ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΕΙ ΜΕ 2B(+)/DB20 ΚΑΙ ΕΧΕΙ ΥΠΟΒΛΗΘΕΙ ΣΕ ΣΥΝΕΧΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ 18 ΗΜΕΡΩΝ

Ο ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΕΓΙΝΕ ΜΕ PSTVD (-) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.



ΕΙΚΟΝΑ ΙΙ2.1Ε

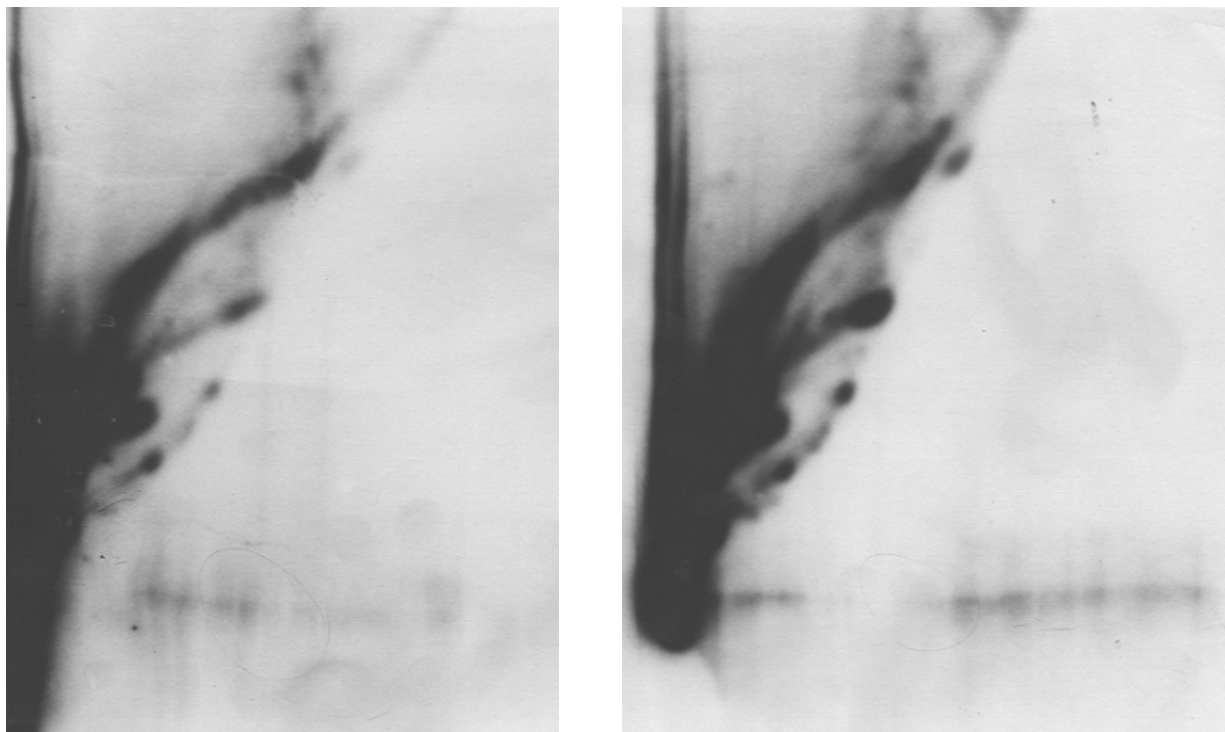
ΑΝΑΛΥΣΗ, ΣΕ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ ΠΗΚΤΩΜΑ, RNA ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ

1: ΑΠΟ ΦΥΛΛΑ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ Η ΟΠΟΙΑ ΕΧΕΙ ΜΟΛΥΝΘΕΙ ΜΕ PSTVD

2: ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΑΠΛΟΕΙΔΟΥΣ WTLU ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΕΙ ΜΕ PDB20

3: ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΑΠΛΟΕΙΔΟΥΣ WTLU ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΕΙ ΜΕ 2B(+)/DB20 ΚΑΙ ΕΧΕΙ ΥΠΟΒΛΗΘΕΙ ΣΕ ΣΥΝΕΧΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ 18 ΗΜΕΡΩΝ

Ο ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΕΓΙΝΕ ΜΕ PSTVD (-) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.



ΕΙΚΟΝΑ ΙΙ2.1Ζ

ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ RNA ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΔΥΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΤΟΥ ΑΠΛΟΕΙΔΟΥΣ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ WTLU ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(+)DB20** ΚΑΙ ΕΧΕΙ ΥΠΟΒΛΗΘΕΙ ΣΕ ΣΥΝΕΧΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ 18 ΗΜΕΡΩΝ.**

Ο ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΕΧΕΙ ΓΙΝΕΙ ΜΕ PSTVD (-) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

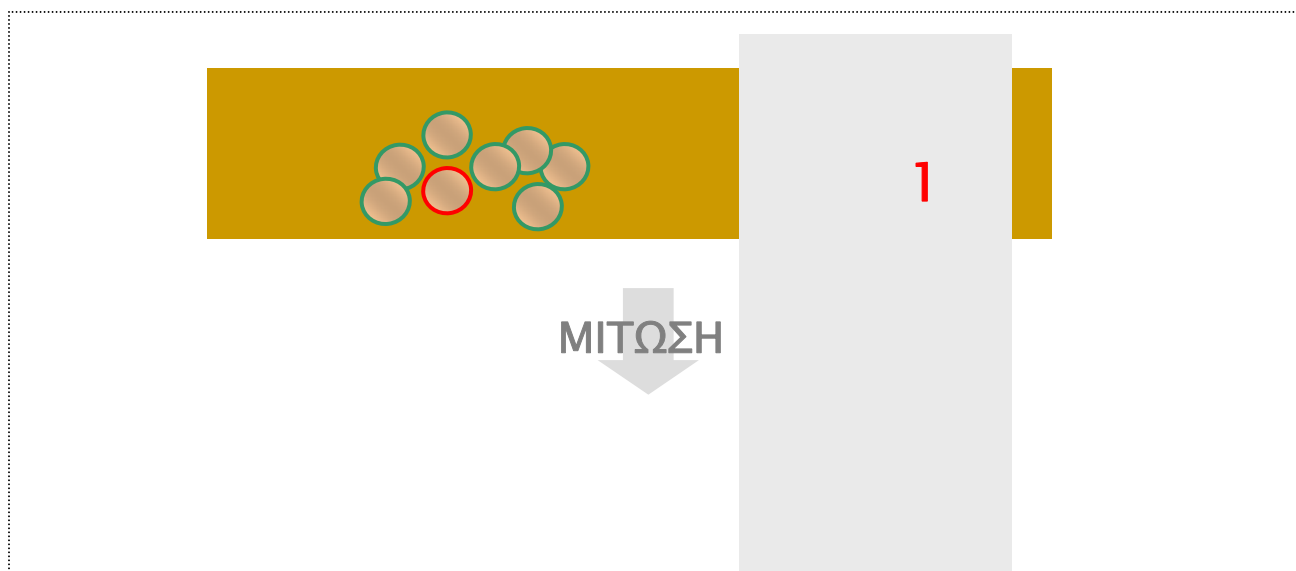
ΙΙ2.2 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

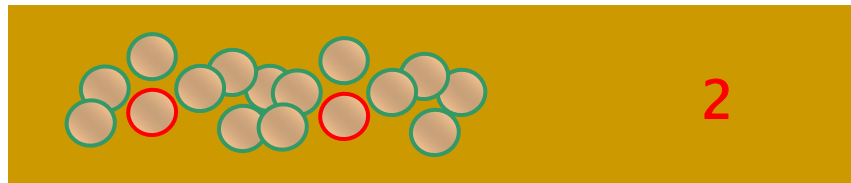
ΑΠΟ ΤΑ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΑ ΦΑΝΗΚΕ ΟΤΙ ΣΕ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ WTLU ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΕΙ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(+)**PDB20** ΚΑΙ ΕΧΕΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΘΕΙ ΣΥΝΕΧΩΣ ΓΙΑ 18 ΗΜΕΡΕΣ, ΔΕΝ ΑΝΙΧΝΕΥΕΤΑΙ ΜΕ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ ΚΥΚΛΙΚΟ PSTVD RNA. ΤΟ ΣΗΜΑ ΠΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΘΗΚΕ ΣΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΙΙ2.1Β ΚΑΙ ΙΙ2.1Γ ΘΑ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΕΡΜΗΝΕΥΤΕΙ ΩΣ ΓΡΑΜΜΙΚΟ, ΚΑΙ

ΟΧΙ ΚΥΚΛΙΚΟ, RNA ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΛΟΓΩ ΚΑΠΟΙΑΣ ΙΔΙΑΙΤΕΡΗΣ ΣΤΕΡΕΟΔΟΜΗΣ ΠΟΥ ΔΙΑΤΗΡΕΙ ΣΤΙΣ ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΕΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ, ΜΕΤΑΝΑΣΤΕΥΕΙ ΑΡΓΟΤΕΡΑ ΑΠΟ ΤΑ ΥΠΟΛΟΙΠΑ ΙΣΟΜΕΓΕΘΗ RNA. ΠΡΟΦΑΝΩΣ ΑΥΤΟ ΣΥΝΕΒΗ ΜΟΝΑΧΑ ΣΤΟ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟ RNA ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΜΑ ΚΑΙ ΟΧΙ ΣΕ ΑΥΤΑ ΠΟΥ ΠΡΟΗΓΗΘΗΚΑΝ ΟΥΤΕ ΣΕ ΑΥΤΑ ΠΟΥ ΑΚΟΛΟΥΘΗΣΑΝ.

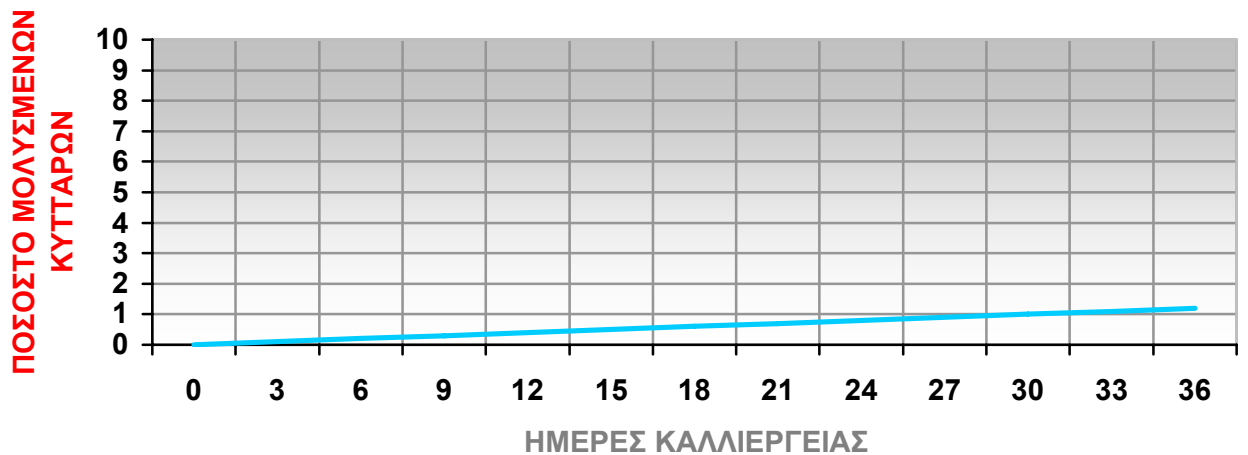
Η ΣΥΝΕΧΗΣ ΑΓΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΔΕΝ ΒΟΗΘΗΣΕ ΤΗΝ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ PSTVD ΣΤΟΝ *S. CEREVISIAE*, ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ ΟΧΙ ΣΕ ΒΑΘΜΟ ΠΟΥ ΝΑ ΟΔΗΓΗΣΕΙ ΣΕ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΙΜΑ ΜΕ ΤΙΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΑΜΕ. ΑΚΟΜΑ ΚΑΙ ΑΝ ΤΑ ΚΑΤΑΛΛΗΛΩΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΑ ΜΟΡΙΑ RNA ΕΧΟΥΝ ΕΜΦΑΝΙΣΤΕΙ ΚΑΙ ΤΟ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΜΕΝΟ ΙΟΕΙΔΟΣ ΥΠΑΡΧΕΙ ΣΕ ΚΑΠΟΙΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ, ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΥΤΩΝ ΣΙΓΟΥΡΑ ΕΙΝΑΙ ΠΟΛΥ ΜΙΚΡΟ ΩΣΤΕ ΤΟ PSTVD ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΙΜΟ ΣΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ.

Το πρόβλημα με τις αγενείς καλλιέργειες είναι ότι ένα μολυσματικό στοιχείο μπορεί να μεταδοθεί μοναχά καθέτως δηλ. από το μητρικό στα θυγατρικά κυττάρα κοκ. Έτσι ακόμα και αν κάπου μέσα στον κυτταρικό πληθυσμό υπάρχει κάποιο μολυσμένο κύτταρο, το μολυσματικό στοιχείο είναι παγιδευμένο στην κυτταρική γραμμή των απογόνων του συγκεκριμένου κυττάρου. Εάν οι μολυσμένοι απογονοί είναι εξελικτικά ισοδυναμοί με τον υπολοίπο πληθυσμό, το ποσοστό των μολυσμένων κυττάρων θα παραμείνει σταθερό. Για παράδειγμα, εάν ανάμεσα σε 8 κυττάρα βρίσκεται 1 μολυσμένο, μετά την μιτώση θα υπάρχουν 16 κυττάρα εκ των οποίων 2 θα είναι μολυσμένα (Σχήμα 112.2α) κοκ. Όσες κυτταρικές διαιρέσεις και αν συμβούν, η αναλογία των μολυσμένων κυττάρων στον πληθυσμό θα παραμείνει σταθερή στο 1:8.





ΠΡΕΠΕΙ ΩΣΤΟΣΟ ΝΑ ΛΗΦΘΕΙ ΥΠ ΟΨΗΝ ΤΟ ΓΕΓΟΝΟΣ ΟΤΙ ΣΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΠΟΥ ΕΚΦΡΑΖΕΙ ΤΟ PSTVD CDNA, ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ ΘΑ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΥΝΕΧΩΣ ΣΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ. ΑΥΤΟ ΘΑ ΣΗΜΑΙΝΕΙ ΟΤΙ, ΑΝ ΠΡΑΓΜΑΤΙ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ, ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΤΩΝ “ΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ” ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΑΥΞΗΘΕΙ. Ο ΡΥΘΜΟΣ ΑΥΞΗΣΗΣ ΤΟΥ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΤΩΝ ΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΘΑ ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟΝ ΡΥΘΜΟ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΑΓΩΝ, Ο ΟΠΟΙΟΣ ΟΜΩΣ ΕΙΝΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΣ, ΟΠΟΙΟΣ ΚΑΙ ΑΝ ΕΙΝΑΙ. ΓΙΑ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ, ΑΝ ΚΑΘΕ ΤΡΕΙΣ ΗΜΕΡΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΟ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΑ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΣΤΟ 0,1% ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ, ΤΟΤΕ ΣΤΙΣ ΠΡΩΤΕΣ 3 ΗΜΕΡΕΣ ΤΟ 0,1% ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΘΑ ΕΙΝΑΙ ΜΟΛΥΣΜΕΝΟ, ΣΕ 6 ΗΜΕΡΕΣ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΘΑ ΕΙΝΑΙ $0,1+0,1=0,2\%$, ΣΕ 9 ΗΜΕΡΕΣ $0,2+0,1=0,3\%$ ΚΟΚ. ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΤΩΝ ΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΘΑ ΑΥΞΑΝΕΤΑΙ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΣΤΟΝ ΧΡΟΝΟ (ΣΧΗΜΑ ΙΙ2.2Β).



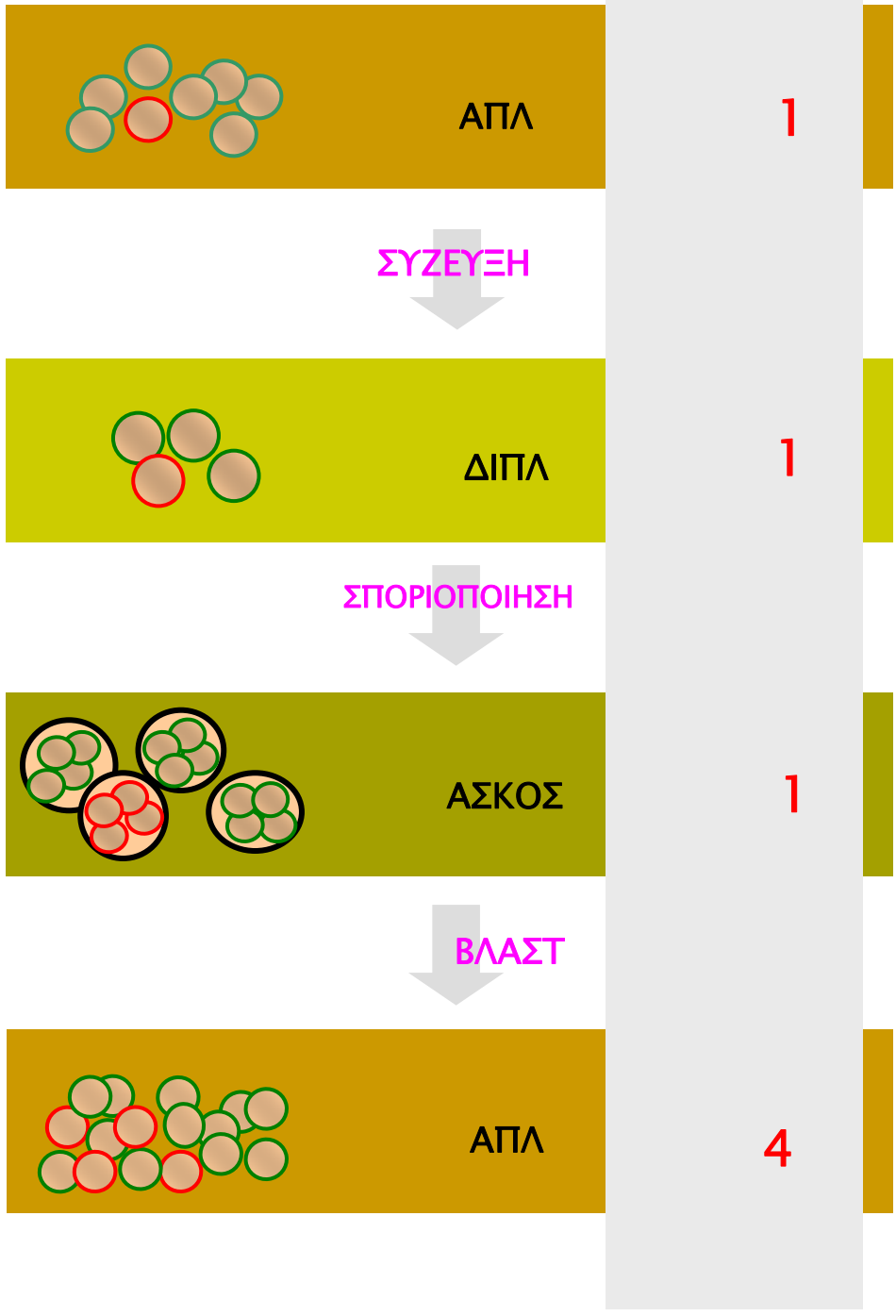
Η ΓΡΑΜΜΙΚΗ ΑΥΞΗΣΗ ΤΟΥ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΣΗΜΑΙΝΕΙ ΟΤΙ ΣΕ 36 ΗΜΕΡΕΣ ΔΙΠΛΑΣΙΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΘΑ ΕΙΝΑΙ ΜΟΛΥΣΜΕΝΟ ΑΠΟ ΟΤΙ ΣΤΙΣ 18. ΑΝ ΟΜΩΣ ΣΤΙΣ 18 ΜΕΡΕΣ ΤΙΠΟΤΕ ΔΕΝ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΚΕ, ΕΙΝΑΙ ΑΠΙΘΑΝΟ ΝΑ ΔΟΥΜΕ ΚΑΤΙ ΣΤΙΣ 36. ΕΞΑΛΛΟΥ, ΟΣΟ ΠΑΡΑΤΕΙΝΕΤΑΙ Ο ΧΡΟΝΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΑΥΞΑΝΕΤΑΙ Ο ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΕΞΩΓΕΝΩΝ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΜΟΛΥΝΣΕΩΝ ΚΑΙ ΔΕΝ ΑΞΙΖΕΙ ΤΟΝ ΚΟΠΟ ΝΑ ΣΥΝΕΧΙΣΤΕΙ ΤΟ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟ ΠΕΙΡΑΜΑ.

II2.3 ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΕΝΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΑΧΕΙΑ ΔΙΑΔΟΣΗ ΕΝΟΣ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΥ ΣΤΟΙΧΕΙΟΥ ΕΙΝΑΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΗ Η ΟΡΙΖΟΝΤΙΑ ΜΕΤΑΔΟΣΗ, ΠΟΥ ΣΤΟΥΣ ΙΟΥΣ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΙΟΣΩΜΑΤΙΩΝ. ΩΣΤΟΣΟ, ΚΑΙ ΓΙΑ ΕΝΑ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΠΟΥ ΔΕΝ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΜΕΤΑΚΙΝΗΘΕΙ ΑΠΟ ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΖΕΤΑΙ ΣΕ ΕΝΑ ΑΛΛΟ, ΥΠΑΡΧΕΙ ΤΡΟΠΟΣ ΝΑ ΔΙΑΔΟΘΕΙ ΣΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ, ΟΤΑΝ ΑΥΤΟΣ ΑΝΑΠΤΥΣΣΕΤΑΙ ΕΝΓΕΝΩΣ. ΟΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ *S. CEREVISIAE* ΠΟΥ ΩΣ ΤΩΡΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΗΤΑΝ ΑΓΕΝΕΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΑΠΛΟΕΙΔΩΝ Η ΔΙΠΛΟΕΙΔΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ. ΩΣΤΟΣΟ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ Η ΑΠΛΟΕΙΔΗΣ ΚΑΙ Η ΔΙΠΛΟΕΙΔΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΝΑ ΕΝΑΛΛΑΣΣΟΝΤΑΙ,

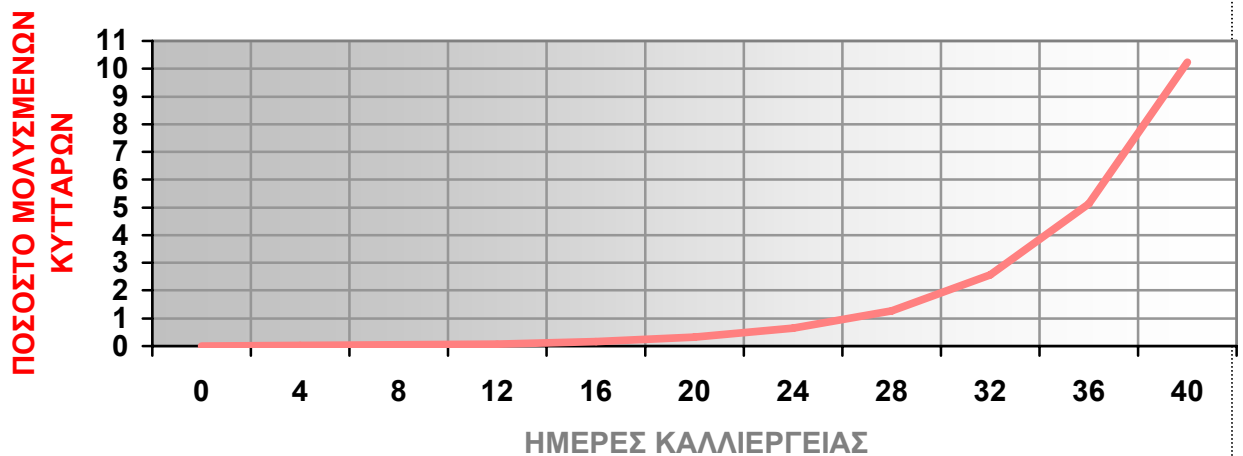
ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΣΟΛΑΒΗΣΗ ΤΗΣ ΦΑΣΗΣ ΤΩΝ ΑΣΚΟΣΠΟΡΙΩΝ. ΚΑΘΕ ΦΟΡΑ ΠΟΥ ΑΥΤΟ ΘΑ ΣΥΜΒΕΙ, ΘΑ ΕΧΕΙ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΙ ΕΝΑΣ ΚΥΚΛΟΣ ΕΝΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ.

ΣΤΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΠΟΥ ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΘΑ ΦΑΝΕΙ ΤΟ ΠΩΣ ΜΕΤΑΒΑΛΛΕΤΑΙ Η ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΕΝΑΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ *S. CEREVISIAE* ΠΟΥ ΑΝΑΠΑΡΑΓΕΤΑΙ ΕΝΓΕΝΩΣ. (ΣΧΗΜΑ ΙΙ2.3Α). ΕΣΤΩ ΟΤΙ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ 8 ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ 1 ΕΙΝΑΙ ΜΟΛΥΣΜΕΝΟ. ΟΤΑΝ ΤΑ ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΣΥΖΕΥΓΝΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΖΕΥΓΟΣ ΑΠΛΟΕΙΔΩΝ ΠΡΟΚΥΠΤΕΙ ΕΝΑ ΔΙΠΛΟΕΙΔΕΣ ΚΥΤΤΑΡΟ. ΕΤΣΙ ΑΠΟ ΤΑ 8 ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΘΑ ΠΡΟΚΥΨΟΥΝ 4 ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΕΚ ΤΩΝ ΟΠΟΙΩΝ ΤΟ 1 ΘΑ ΕΙΝΑΙ ΜΟΛΥΣΜΕΝΟ. ΟΤΑΝ Η ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΩΝ ΔΙΠΛΟΕΙΔΩΝ ΥΠΟΒΑΛΛΕΤΑΙ ΣΕ ΣΠΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ, ΤΟ ΚΑΘΕ ΔΙΠΛΟΕΙΔΕΣ ΔΙΝΕΙ ΕΝΑ ΑΣΚΟΣΠΟΡΙΟ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΤΕΣΣΕΡΑ ΣΠΟΡΙΑ. ΠΡΟΦΑΝΩΣ ΤΑ ΤΕΣΣΕΡΑ ΣΠΟΡΙΑ ΤΟΥ ΑΣΚΟΣΠΟΡΙΟΥ ΠΟΥ ΠΡΟΗΛΘΕ ΑΠΟ ΤΟ ΜΟΛΥΣΜΕΝΟ ΔΙΠΛΟΕΙΔΕΣ ΘΑ ΕΙΝΑΙ ΜΟΛΥΣΜΕΝΑ. ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΒΛΑΣΤΗΣΗ ΤΩΝ 4 ΑΣΚΟΣΠΟΡΙΩΝ, ΘΑ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΘΟΥΝ ΣΥΝΟΛΙΚΑ 16 ΣΠΟΡΙΑ (4 ΑΣΚΟΙ × 4 ΣΠΟΡΙΑ ΑΝΑ ΑΣΚΟ) ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΙΝΑΙ ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΑΠΟ ΤΑ ΟΠΟΙΑ 4 ΘΑ ΕΙΝΑΙ ΜΟΛΥΣΜΕΝΑ. ΕΤΣΙ, ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΝΑΝ ΚΥΚΛΟ ΕΝΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΕΝΩ Ο ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΛΟΕΙΔΩΝ ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΤΗΚΕ ΑΠΟ 8 ΣΕ 16, Ο ΑΡΙΘΜΟΣ ΤΩΝ ΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ ΑΠΛΟΕΙΔΩΝ ΤΕΤΡΑΠΛΑΣΙΑΣΤΗΚΕ ΑΠΟ 1 ΣΕ 4. Η ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ ΑΠΛΟΕΙΔΩΝ ΣΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΕΙΝΑΙ ΤΩΡΑ 4:16=1:4, ΔΙΠΛΑΣΙΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΗ ΠΟΥ ΗΤΑΝ 1:8. ΕΑΝ Ο ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΞΑΝΑΞΕΚΙΝΗΣΕΙ ΜΕ ΤΑ ΝΕΑ ΑΠΛΟΕΙΔΗ, Η ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ ΣΤΟΝ ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΘΑ ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΤΕΙ ΚΑΙ ΠΑΛΙ ΚΟΚ.



 ΜΟΛΥΣΜΕΝΑ
 ΚΥΤΤΑΡΑ

ΤΟ ΓΕΓΟΝΟΣ ΟΤΙ ΣΕ ΚΑΘΕ ΚΥΚΛΟ ΕΝΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΤΩΝ ΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΔΙΠΛΑΣΙΑΖΕΤΑΙ, ΣΗΜΑΙΝΕΙ ΟΤΙ ΣΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ Η ΑΥΞΗΣΗ ΤΟΥ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΕΙΝΑΙ ΕΚΘΕΤΙΚΗ (ΣΧΗΜΑ II2.3B). ΜΕΤΑ ΑΠΟ 10 ΚΥΚΛΟΥΣ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΘΑ ΕΙΝΑΙ $2^{10}=1024$ ΦΟΡΕΣ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΟ. ΑΝ ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΤΩΝ ΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟΝ ΑΡΧΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΕΙΝΑΙ 0,01% ΚΑΙ ΩΣ ΕΚ ΤΟΥΤΟΥ ΜΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΙΜΟ, ΜΕΤΑ ΑΠΟ 10 ΚΥΚΛΟΥΣ ΕΝΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΠΟΥ ΚΑΘΕ ΕΝΑΣ ΔΙΑΡΚΕΙ ΤΕΣΣΕΡΙΣ ΗΜΕΡΕΣ, ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΘΑ ΞΕΠΕΡΝΑ ΤΟ 10% ΚΑΙ ΤΟ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΘΑ ΕΙΝΑΙ ΠΙΘΑΝΟΤΑΤΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΙΜΟ ΣΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ.



Σχημα II2.3β

Η ΕΚΘΕΤΙΚΗ ΑΥΞΗΣΗ ΤΟΥ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΤΩΝ ΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΙΑΣ

ΑΝΑΠΤΥΧΘΗΚΕ ΕΝΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΜΟ (ΣΕΛ. 141, ΤΕΧΝΙΚΕΣ) ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΠΙΤΡΕΠΕΙ ΑΛΛΕΠΑΛΛΗΛΟΥΣ ΚΥΚΛΟΥΣ ΕΝΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ. ΞΕΚΙΝΑΕΙ ΑΠΟ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ

DKB96 ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΥΠΟΚΕΙΝΤΑΙ ΣΕ ΣΠΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ, ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΕΝΑ ΠΟΣΟΣΤΟ ΠΕΡΙΠΟΥ 50% ΤΩΝ ΔΙΠΛΟΕΙΔΩΝ ΜΕΤΑΤΡΕΠΟΝΤΑΙ ΑΣΚΟΣΠΟΡΙΑ. ΜΕ ΜΙΑ ΕΝΖΥΜΑΤΙΚΗ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΘΑΝΑΤΩΝΟΝΤΑΙ ΤΑ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΑΠΟΜΕΙΝΕΙ ΕΝΩ ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΑ ΛΥΝΟΝΤΑΙ ΟΙ ΑΣΚΟΙ ΚΑΙ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΝΟΝΤΑΙ ΤΑ ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΣΠΟΡΙΑ. ΣΤΗΝ ΣΥΝΕΧΕΙΑ Ο ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΠΟΡΙΩΝ ΑΦΗΝΕΤΑΙ ΝΑ ΣΥΖΕΥΧΘΕΙ ΚΑΙ ΠΡΟΚΥΠΤΟΥΝ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΕ ΠΟΣΟΣΤΟ ΣΧΕΔΟΝ 100%. ΤΟΤΕ ΕΝΑΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΕΧΕΙ ΟΛΟΚΛΗΡΩΘΕΙ ΚΑΙ Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΞΑΝΑΡΧΙΖΕΙ. Ο ΚΑΘΕ ΚΥΚΛΟΣ ΔΙΑΡΚΕΙ ΤΡΕΙΣ ΕΩΣ ΤΕΣΣΕΡΙΣ ΗΜΕΡΕΣ.

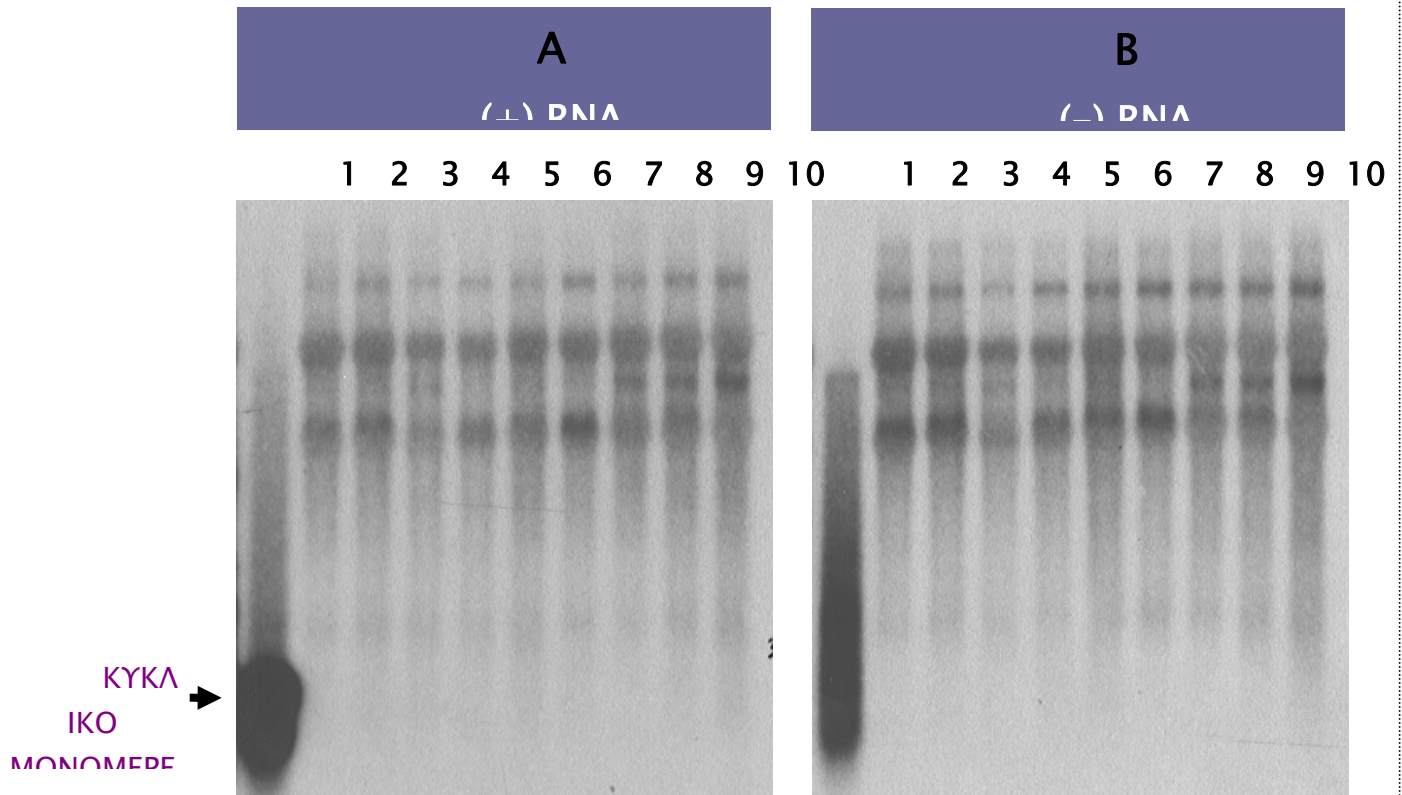
ΕΠΙΛΕΧΘΗΚΕ ΕΝΑ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΠΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΙ ΣΧΕΤΙΚΑ ΥΨΗΛΑ ΠΟΣΟΣΤΑ ΣΠΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗΣ, ΤΟ DKB96. ΑΠΟ ΑΥΤΟ ΔΗΜΙΟΥΡΓΗΘΗΚΑΝ ΔΥΟ ΣΤΕΛΕΧΗ, ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(+)_{DB20}, ΚΑΙ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 3S(+)_{426RPR}. ΚΑΙ ΤΑ ΔΥΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑ ΦΕΡΟΥΝ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ URA3 ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΧΡΗΣΙΜΕΥΕΙ ΑΦ' ΕΝΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΤΕΙ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ, ΑΦ' ΕΤΕΡΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΟΠΙΝΗ «ΑΠΟΡΡΙΨΗ» ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ.

16 ΚΥΚΛΟΙ ΕΝΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΑ ΔΥΟ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΕΝΑ ΣΤΕΛΕΧΗ. ΣΤΟΥΣ ΠΡΩΤΟΥΣ ΚΥΚΛΟΥΣ ΤΑ PSTVD ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΙΔΙΩΝ ΧΡΗΣΙΜΕΥΟΥΝ ΩΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗ “ΠΡΩΤΗ ΥΛΗ” ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΥΤΟΕΠΙΛΟΓΗ ΕΝΟΣ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΟΥ ΠΟΥ ΘΑ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΖΕΤΑΙ. ΕΦΟΣΟΝ ΑΥΤΟ ΣΥΜΒΕΙ ΤΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ ΕΙΝΑΙ ΠΕΡΙΤΤΑ, ΕΝΩ ΔΥΣΧΕΡΑΙΝΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ. ΕΤΣΙ, ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟΝ ΕΚΤΟ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΕΒΔΟΜΟ ΚΥΚΛΟ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ “ΑΦΑΙΡΕΘΗΚΕ” ΜΕ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΣΕ ΣΤΕΡΕΟ ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΜΕΣΟ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΙ FOA. ΤΟ FOA (FLUOROROTIC ACID) ΕΙΝΑΙ ΕΝΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ URA3, Η ΟΠΟΙΑ ΤΟ ΜΕΤΑΤΡΕΠΕΙ ΣΕ ΤΟΞΙΚΟ ΠΡΟΙΟΝ ΠΟΥ ΑΝΑΣΤΕΛΛΕΙ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ. ΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΟΜΩΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΧΑΣΕΙ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ, ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΚΑΙ ΤΟ URA3 ΓΟΝΙΔΙΟ, ΣΥΝΕΧΙΖΟΥΝ ΝΑ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΝΤΑΙ ΚΑΙ ΜΕ ΑΥΤΟ ΤΟΝ ΤΡΟΠΟ ΕΠΙΛΕΓΟΝΤΑΙ.

ΣΤΟΥΣ ΔΙΑΦΟΡΟΥΣ ΚΥΚΛΟΥΣ, ΑΠΟ ΤΑ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΕ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ RNA ΠΟΥ ΑΝΑΛΥΘΗΚΕ ΚΑΤΑ NORTHERN ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ PSTVD RNA (ΕΙΚΟΝΕΣ II2.3A ΚΑΙ II2.3B). ΟΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΣ 2B(+)_{ΚΑΘΕ ΚΥΚΛΟΥ}, ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΟΥ RNA ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΑΝ ΣΕ

ΦΟΑ, ΔΙΟΤΙ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ ΕΞΑΚΟΛΟΥΘΟΥΣΕ ΝΑ ΥΠΑΡΧΕΙ ΣΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ, ΣΕ ΠΟΛΥ ΧΑΜΗΛΟ ΚΑΙ ΜΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΙΜΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΣΤΟΥΣ ΠΡΩΙΜΟΥΣ ΚΥΚΛΟΥΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΑ ΣΕ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΟ, ΑΝΙΧΝΕΥΣΙΜΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΣΤΟΥΣ ΤΕΛΕΥΤΑΙΟΥΣ.

ΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ ΕΙΝΑΙ ΟΤΙ ΔΕΝ ΑΝΙΧΝΕΥΕΤΑΙ ΡSΤVΔ RNA ΣΤΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ, ΟΥΤΕ ΜΕΤΑ ΑΠΟ 16 ΚΥΚΛΟΥΣ ΕΝΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ.



ΕΙΚΟΝΑ II.2.3Α

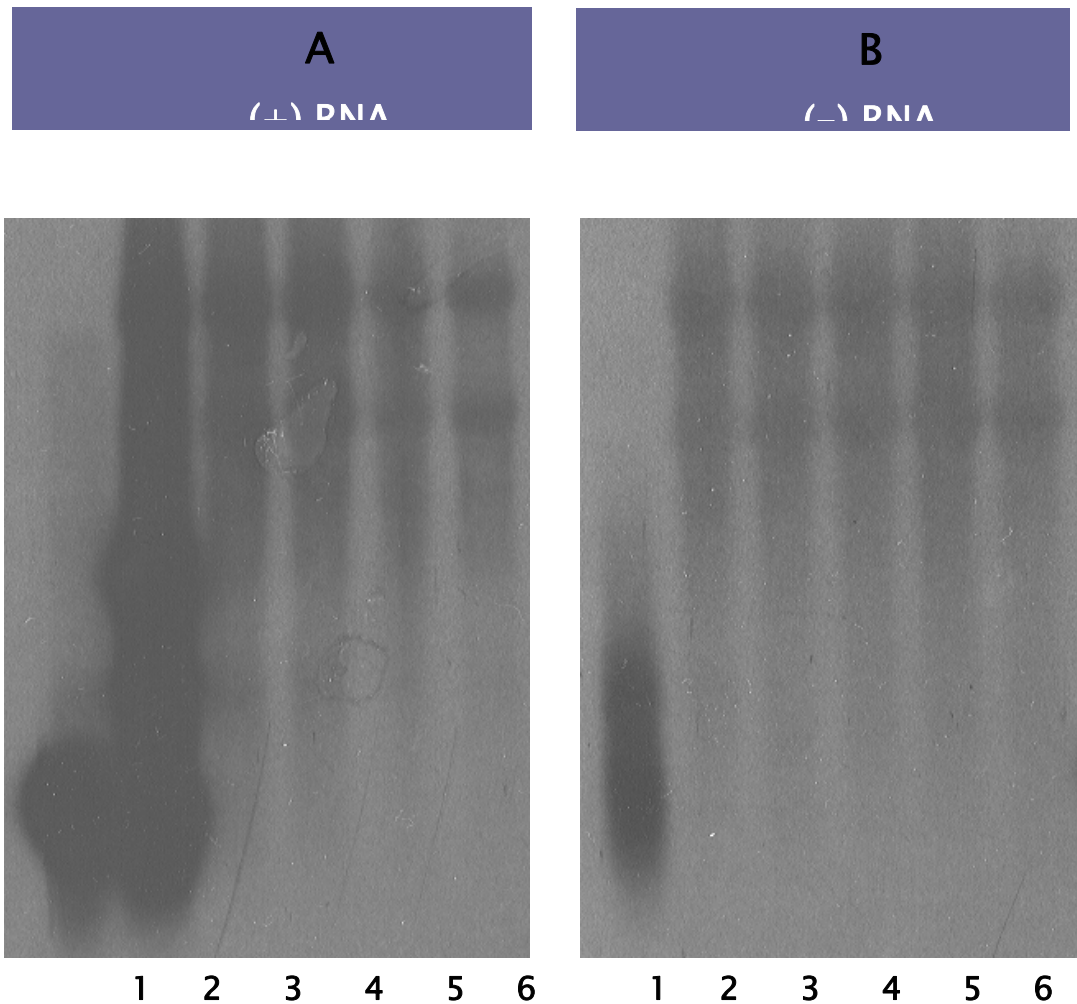
ΑΝΑΛΥΣΗ NORTHERN ΤΩΝ RNA ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ DKB196, ΠΟΥ ΑΦΟΥ ΜΕΤΑΣΧΜΑΤΙΣΤΗΚΕ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 2B(+)/DB20, ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΘΗΚΕ ΕΝΓΕΝΩΣ.

A: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (-) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

B: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (+) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

1: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΦΥΛΛΑ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ ΜΟΛΥΣΜΕΝΗΣ ΜΕ PSTVD.

2-10: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΑΠΟ ΔΙΠΛΟΕΙΔΕΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΣΤΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥΣ ΚΥΚΛΟΥΣ #1, 6, 8, 9, 10, 13, 14, 15 ΚΑΙ 16 ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ.



ΕΙΚΟΝΑ II.2.3β

ΑΝΑΛΥΣΗ NORTHERN ΤΩΝ RNA ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ DKB196, ΠΟΥ ΑΦΟΥ ΜΕΤΑΣΧΜΑΤΙΣΤΗΚΕ ΜΕ ΤΟ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ 3S(+)DB20**, ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΘΗΚΕ ΕΝΓΕΝΩΣ.**

A: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (-) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

B: ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΜΕ PSTVD (+) RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ.

1: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΑΠΟ ΦΥΛΛΑ ΝΤΟΜΑΤΙΑΣ ΜΟΛΥΣΜΕΝΗΣ ΜΕ PSTVD.

2-6: ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΑΠΟ ΔΙΠΛΟΕΙΔΕΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΣΤΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥΣ ΚΥΚΛΟΥΣ #6,8,10,14, ΚΑΙ 16 ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΣ.

ΚΥΚΛΟ

ΙΚΟ

ΜΟΝΟΜΕΡΕ

II.2.4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

ΔΕΝ ΠΑΡΑΤΗΡΗΘΗΚΕ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΟΥ PSTVD ΣΤΟΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΟΥΤΕ ΑΦΟΥ ΔΟΘΗΚΕ Η ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΔΟΣΗΣ ΣΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ. ΑΚΟΜΗ ΚΑΙ ΑΝ ΚΑΠΟΙΟ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΟ ΤΟΥ PSTVD RNA ΜΕ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΕΙΧΕ ΕΜΦΑΝΙΣΤΕΙ ΣΤΟΝ ΑΡΧΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΣΕ ΕΝΑ ΕΛΑΧΙΣΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΩΝ, ΕΣΤΩ ΚΑΙ 0,01%, ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΟΥΣ 16 ΚΥΚΛΟΥΣ ΕΝΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΘΑ ΕΙΧΕ ΔΙΑΔΟΘΕΙ ΣΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΕ ΠΟΣΟΣΤΟ 10% (ΣΧΗΜΑ II.2.3B) ΚΑΙ ΘΑ ΗΤΑΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΙΜΟ.

ΚΑΤΙ ΠΟΥ ΔΕΝ ΕΛΑΒΕ ΥΠ ΟΨΗΝ Η ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΠΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΤΗΚΕ ΕΙΝΑΙ Ο ΑΡΙΘΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΓΡΑΦΩΝ. ΑΚΟΜΗ ΚΑΙ ΕΑΝ ΟΛΟΣ Ο ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΥΠΟΣΤΗΡΙΖΕΙ, ΕΙΤΕ ΕΞ ΑΡΧΗΣ ΕΙΤΕ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΟΥΣ 16 ΚΥΚΛΟΥΣ, ΤΟΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΑΛΛΑ ΣΕ ΧΑΜΗΛΟΥΣ ΑΡΙΘΜΟΥΣ ΜΟΡΙΩΝ ΑΝΑ ΚΥΤΤΑΡΟ, Η ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΠΡΟΦΑΝΩΣ ΔΕΝ ΕΠΑΡΚΕΙ. ΣΕ ΕΝΑ ΜΟΛΥΣΜΕΝΟ ΦΥΤΟ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΣΥΣΣΩΡΕΥΕΤΑΙ ΣΕ ΤΕΡΑΣΤΙΟΥΣ ΑΡΙΘΜΟΥΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΩΝ ΜΕ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΝΑ ΑΝΙΧΝΕΥΕΤΑΙ ΠΟΛΥ ΕΥΚΟΛΑ ΟΜΩΣ ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΙΣΤΟΥΣ ΠΟΥ ΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥΣ Η ΔΕΝ ΔΙΑΙΡΟΥΝΤΑΙ ΚΑΘΟΛΟΥ Η ΔΙΑΙΡΟΥΝΤΑΙ ΑΡΓΑ. ΣΕ ΜΙΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ Η ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΔΙΑΙΡΕΣΗ ΔΙΑΡΚΕΙ ΠΟΛΥ ΛΙΓΟΤΕΡΟ. Ο ΥΨΗΛΟΣ ΡΥΘΜΟΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ RNA ΚΑΙ ΟΙ ΓΡΗΓΟΡΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΔΙΑΙΡΕΣΕΙΣ, ΛΕΙΤΟΥΡΓΟΥΝ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΩΣ ΕΙΣ ΒΑΡΟΣ ΤΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΠΟΥ ΘΑ ΕΥΝΟΟΥΣΑΝ ΤΗΝ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΤΟΥ PSTVD RNA ΣΕ ΑΝΙΧΝΕΥΣΙΜΑ ΕΠΙΠΕΔΑ.

ΟΠΩΣΔΗΠΟΤΕ ΔΕΝ ΓΝΩΡΙΖΟΥΜΕ ΟΙ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΠΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΤΗΚΑΝ ΕΔΩ ΣΕ ΤΙ ΒΑΘΜΟ ΚΑΛΥΠΤΟΥΝ ΤΟ ΠΕΔΙΟ ΜΙΑΣ ΤΕΤΟΙΑΣ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗΣ ΚΑΘΩΣ ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΕΚΤΕΤΑΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΤΕΤΟΙΟΥ ΤΥΠΟΥ. ΕΚΤΟΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΓΕΝΙΚΟΤΕΡΗ ΜΕΙΩΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ, ΘΑ ΜΠΟΡΟΥΣΑΝ ΙΣΩΣ ΝΑ

ΔΟΚΙΜΑΣΤΟΥΝ ΙΔΙΑΙΤΕΡΕΣ ΘΡΕΠΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ ΜΙΑ ΠΛΟΥΣΙΟΤΕΡΗ ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ. ΣΗΜΕΙΩΤΕΟΝ ΟΤΙ Η ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΦΟΡΟΥΣΕ ΤΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΤΩΝ ΑΤΡΑΚΤΟΕΙΔΩΝ ΚΟΝΔΥΛΩΝ ΤΗΣ ΠΑΤΑΤΑΣ (ΡΟΤΑΤΟ SPINDLE TUBER VIROID, PSTVD) ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΠΙΛΕΧΘΗΚΕ ΔΙΟΤΙ ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΚΑΛΥΤΕΡΑ ΜΕΛΕΤΗΜΕΝΟ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΙΟΕΙΔΗ. ΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΡΟΗΓΗΘΗΚΑΝ ΕΔΕΙΞΑΝ ΟΤΙ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΤΟΥ ΙΟΕΙΔΟΥΣ ΔΕΝ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΣΕ ΥΨΗΛΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΣΕ ΚΑΘΕ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΚΑΙ ΟΥΤΕ ΕΙΝΑΙ ΑΠΛΗ Η ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΣΤΟΝ ΥΠΟΨΗΦΙΟ ΞΕΝΙΣΤΗ. ΕΠΟΜΕΝΩΣ ΘΑ ΗΤΑΝ ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΩΣ ΣΚΟΠΙΜΟ ΝΑ ΠΡΟΤΙΜΗΘΕΙ ΣΤΟ ΜΕΛΛΟΝ ΚΑΠΟΙΟ ΙΟΕΙΔΕΣ ΜΕ ΠΛΟΥΣΙΟΤΕΡΟ ΕΥΡΟΣ ΞΕΝΙΣΤΩΝ ΟΠΩΣ ΤΑ CEVD ΚΑΙ HSVD. ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΞΕΧΝΑΜΕ ΟΤΙ ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΚΑΙ ΚΑΠΟΙΑ ΑΥΤΟΚΑΤΑΛΥΤΙΚΑ ΙΟΕΙΔΗ, ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΙΣΩΣ ΕΙΝΑΙ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΑ ΑΠΟ ΤΟΝ ΦΥΤΙΚΟ ΞΕΝΙΣΤΗ ΤΟΥΣ ΑΠΟ ΟΤΙ ΤΑ ΜΗ ΑΥΤΟΚΑΤΑΛΥΤΙΚΑ, ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ ΟΣΟΝ ΑΦΟΡΑ ΤΗΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΟΥ RNA. ΤΕΤΟΙΑ ΠΙΟ «ΠΡΩΤΟΓΟΝΑ» ΙΟΕΙΔΗ ΙΣΩΣ ΠΡΟΣΑΡΜΟΖΟΝΤΑΙ ΕΥΚΟΛΟΤΕΡΑ ΣΕ ΜΥΚΗΤΕΣ.

ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΕΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ,
ΟΛΙΓΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΑ
ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΕΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ

Οι κατασκευές είναι τοποθετημένες με την σειρά στην οποία απαντώνται στο κείμενο. Κάποιες κατασκευές έχουν μετονομαστεί και στις περιπτώσεις αυτές η προηγούμενη ονομασία, η οποία απαντάται στο εργαστηριακό πρωτοκόλλο, βρίσκεται σε αγκυλή.

XICTACTII [19PACTII]

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 1,4KB SMAI-ΧΟΙ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΚΛΩΝΟΥ 19 III/45 (RUDOLF SAEGESER) ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗ SMA-ΧΟΙ ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PACTII (SENGUPTA D. J. ET AL, 1996).

HAIIIMS2-1 [MS2-PHA106(+)-PIII]

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,52KB ECORI ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PHA(+)-PMS2-1 ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ ECORI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIIIEX426RPR (SENGUPTA D. J. ET AL, 1996).

PHA(+)-PMS2-1

ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΕ ΜΕ ΕΝΘΕΣΗ ΤΟΥ 0,4KB ECORI-HINDIII ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PHA106 (TABLER M., 1986) ΣΤΗΝ SMAI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PMS2-1 (SENGUPTA D. J. ET AL, 1996).

STYIIIMS2-1 [MS2-1STY(+)-PIII]

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,48KB ECORI ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ STY(+)-PMS2-1 ΕΝΤΕΘΗΚΕ ΣΤΗΝ ECORI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIIIEX426RPR (SENGUPTA D. J. ET AL, 1996).

Sty(+)-pMS2-1

ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΕ ΜΕ ΕΝΘΕΣΗ ΤΟΥ 0,36KB STYI ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PSP-AV5.8(-) (TABLER M., 1986) ΣΤΗΝ SMAI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PMS2-1 (SENGUPTA D. J. ET AL, 1996).

SMAIIIMS2-1 [1SMA(+)/PIIIMS2-1]

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,36KB SMAI ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PSP-AV5.8(-) (TABLER M., 1986)
ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ SMAI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIII/MS2-1.

PIII/MS2-1

ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΕ ΜΕ ΕΝΘΕΣΗ ΤΟΥ 0,12 KB ECORI ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PMS2-1 ΣΤΗΝ ECORI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIIIEX426RPR (SENGUPTA D. J. ET AL, 1996).

L170IIIMS2-1 [LEFT(+)/PIIIMS2-1]

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,17KB AVAI ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PSP2B(+) (TABLER M., 1986)
ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ SMAI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIII/MS2-1.

R190IIIMS2-1 [RIGHT(+)/PIIIMS2-1]

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,19KB AVAI ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PSP2B(+) (MARTIN TABLER, 1986)
ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ SMAI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIII/MS2-1.

L280IIIMS2-1 [AE280PIIIMS2-1]

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,28KB EAGI-AVAII ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PSP-AV4.2(+) (MARTIN TABLER, 1986) ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ SMAI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIII/MS2-1.

R80IIIMS2-1 [EA80PIIIMS2-1]

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,8KB EAGI-AVAII ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PSP-AV4.2(+) (TABLER M., 1986) ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ SMAI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIII/MS2-1.

HSVIIIMS2-1 [HSVDSMAPIIIMS2-1]

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,3KB SMAI ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PHP121 (HOLGER PUCHTA)
ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ SMAI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIII/MS2-1.

HSV190IIIMS2-1

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,19KB ΕΑΡΙ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ RHP121 (HOLGER PUCHTA) ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ SMAI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIII/MS2-1.

HSV110IIIMS2-1

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,117KB ΕΑΡΙ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ RHP121 (HOLGER PUCHTA) ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ SMAI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIII/MS2-1.

R34WTPUC [TRPUC19]

ΤΟ **XT7R34WT** [XT7/WT] DNA ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΗΚΕ ΜΕ ΧΒΑΙ ΚΑΙ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΣΤΗ ΘΕΣΗ ΧΒΑΙ-SMAI ΤΟΥ PUC18.

R34MUTPUC [TRMPUC19]

ΤΟ **XT7R34MUT** [XT7/MUT] DNA ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΗΚΕ ΜΕ ΧΒΑΙ ΚΑΙ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΣΤΗ ΘΕΣΗ ΧΒΑΙ-SMAI ΤΟΥ PUC18.

R34REV1PUC [TRR1PUC19]

ΤΟ **XT7R34REV1** [XT7/REV1] DNA ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΗΚΕ ΜΕ ΧΒΑΙ ΚΑΙ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΣΤΗ ΘΕΣΗ ΧΒΑΙ-SMAI ΤΟΥ PUC18.

R34REV2PUC [TRR2PUC19]

ΤΟ **XT7R34REV2** [XT7/REV2] DNA ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΗΚΕ ΜΕ ΧΒΑΙ ΚΑΙ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΣΤΗ ΘΕΣΗ ΧΒΑΙ-SMAI ΤΟΥ PUC18.

R34wtIIIMS2-1

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,09KB ΤΑQI ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ R34WTPUC ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗ ΘΕΣΗ SMAI ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIII/MS2-1

R34mutIIIMS2-1

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,09KB ΤΑQΙ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ R34MUTPUC ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗ ΘΕΣΗ SMAI ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIII/MS2-1.

R34rev1IIIMS2-1

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,09KB ΤΑQΙ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ R34REV1PUC ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗ ΘΕΣΗ SMAI ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIII/MS2-1.

R34rev2IIIMS2-1

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,09KB ΤΑQΙ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ R34REV2PUC ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗ ΘΕΣΗ SMAI ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PIII/MS2-1.

4B(+)ART1****

4B(-)ART1****

ΕΝΑ ΤΜΗΜΑ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 1,44KB, ΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΕ ΑΠΟ ΜΕΡΙΚΗ ΠΕΨΗ ΜΕ ΒΑΜΗΙ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PSP-AV6.2(+) (TABLER M., 1986), ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ ΒΑΜΗΙ ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PART1 (MCLEOD AND BEACH 1987).

2B(+)DB20****

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,73KB ECORI(BLUNT)-ΧΒΑΙ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PSP2B(+) (TABLER M., 1986) ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ ΝΟΤΙ(BLUNT)-ΧΒΑΙ ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PDB20+ (ΜΠΕΝΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ, 1996).

2B(-)DB20****

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 0,73KB ECORI-ΧΒΑΙ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PSP2B(+) (TABLER M., 1986) ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ ECORI-ΧΒΑΙ ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PDB20+ (ΜΠΕΝΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ, ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ, 1996).

4B352

ΕΝΑ ΤΜΗΜΑ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 1,44KB, ΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΕ ΑΠΟ ΜΕΡΙΚΗ ΠΕΨΗ ΜΕ ΒΑΜΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PSP-AV6.2(+) (TABLER M., 1986), ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ ΒΑΜΗ ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ ΥΕΡ352 (HILL ET AL 1986).

5B352

ΕΝΑ ΤΜΗΜΑ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 1,8KB, ΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΕ ΑΠΟ ΜΕΡΙΚΗ ΠΕΨΗ ΜΕ ΒΑΜΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PSP-AV6.2(+) (TABLER M., 1986), ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ ΒΑΜΗ ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ ΥΕΡ352 (HILL ET AL 1986).

3S(+)^{426RPR}

3S(-)^{426RPR}

ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΥΣ 1,08KB ΣΜΑΙ ΤΜΗΜΑ (ΠΡΟΙΟΝ ΜΕΡΙΚΗΣ ΠΕΨΗΣ) ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ PSP-AV5.8(-) (TABLER M., 1986) ΤΟΠΟΘΕΤΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ ECORI ΘΕΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ ΡΙΙΙΕΧ^{426RPR} (SENGUPTA D. J. ET AL, 1996).

ΟΛΙΓΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΑ

XBAT7

GGT CTA GAG TAA TAC GAC TCA CTA TAG G

R34WTT7 [TR]

GGGAGAAAGGAAGGGTGAAAACCCCTGTTTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTAC

R34MUTT7 [TRM]

GGGAGAAAGGAAGGGTGAATTCCCCTGTTTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTAC

R34REV1T7 [TRR1]

GGGAGAAAGGAAGGGGAAAATCCCTGTTTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTAC

R34REV2T7 [TRR2]

GGGAGAAAGGAAGGGGATTTCCCTGTTTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTAC

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ ΤΟΥ DNA

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ *E. COLI*

Ο ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ *E. COLI* ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΘΗΚΕ ΣΕ ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΜΕΣΟ LB (LURIA BROTH) ΜΕ ΤΟΝ ΤΥΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΠΟ (SAMBROOK ET AL, 1989).

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟΥ DNA ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ΒΡΑΣΜΟΥ

ΜΙΑ ΑΠΟΙΚΙΑ ΕΠΩΑΖΕΤΑΙ ΟΛΟΝΥΚΤΙΩΣ ΣΕ 2ML LB+AMP.

1.5ML ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΟΥΝΤΑΙ 1'.

ΤΟ ΙΖΗΜΑ ΕΠΑΝΑΔΙΑΛΥΕΤΑΙ (VORTEX) ΣΕ 0.7ML STET (8% SUCROSE, 5% TRITON×100, 0.05M EDTA, 0.05M TRIS PH8.0).

ΠΡΟΣΤΙΘΕΝΤΑΙ 40ML ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΛΥΣΟΖΥΜΗΣ 10MGR/ML ΚΑΙ ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ ΒΡΑΖΕΤΑΙ ΑΜΕΣΩΣ ΓΙΑ 1-1.5'.

ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ ΣΕ 14000RPM, 5'.

ΣΤΟ ΥΠΕΡΚΕΙΜΕΝΟ ΠΡΟΣΤΙΘΕΤΑΙ ΙΣΟΣ ΟΓΚΟΣ ΙΣΟΠΡΟΠΑΝΟΛΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΔΕΥΕΤΑΙ.

ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΕΠΩΑΣΗ ΣΤΟΥΣ -20°C, 10-20'.

ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΕΙΤΑΙ ΣΤΙΣ 14000RPM, 10'.

ΤΟ ΙΖΗΜΑ ΞΕΠΛΕΝΕΤΑΙ ΜΕ 70% ΑΙΘΑΝΟΛΗ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΔΙΑΛΥΕΤΑΙ ΣΕ 40ML ΝΕΡΟ.

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΟΥ DNA ΜΕ ΣΤΗΛΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ Q-100

ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΩΝ 50ML, ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΤΟΥ ΕΚΑΣΤΟΤΕ ΒΙΒΛΙΑΡΙΟΥ ΟΔΗΓΙΩΝ ΤΗΣ ΕΤΑΙΡΙΑΣ QIAGEN.

ΕΝΖΥΜΑΤΙΚΟΣ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ DNA

ΟΙ ΕΝΖΥΜΑΤΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ, ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΜΟΥ, ΑΠΟΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗΣ ΚΑΙ ΣΥΝΕΝΩΣΗΣ ΤΟΥ DNA ΕΓΙΝΑΝ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΑ ΤΥΠΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ (SAMBROOK ET AL 1989).

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ DNA ΣΕ ΠΗΚΤΩΜΑΤΑ ΑΓΑΡΟΖΗΣ

Ο ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ, ΤΗΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ DNA ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΑΤΙΚΩΝ ΧΕΙΡΙΣΜΩΝ ΕΓΙΝΕ ΣΕ ΠΗΚΤΩΜΑΤΑ ΑΓΑΡΟΖΗΣ, ΜΕ ΧΡΩΣΗ ΒΡΩΜΙΟΥΧΟΥ ΕΘΙΔΙΟΥ, ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΑ ΤΥΠΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ (SAMBROOK ET AL 1989).

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ *E. COLI* ΓΙΑ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ

ΕΝΑ ΜΙΚΡΟ ΤΜΗΜΑ ΑΠΟ ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΗ (-70°C, 30-35% ΓΛΥΚΕΡΟΛΗ) ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ *E. COLI* ΑΠΛΩΝΕΤΑΙ ΣΕ ΤΡΥΒΛΙΟ ΜΕ ΣΤΕΡΕΟ ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΜΕΣΟ LB. ΤΗΝ ΕΠΟΜΕΝΗ ΜΕΡΑ, 10-15 ΜΕΓΑΛΕΣ ΑΠΟΙΚΙΕΣ ΔΙΑΛΥΟΝΤΑΙ ΣΕ 100ML ΥΓΡΟΥ ΘΡΕΠΤΙΚΟΥ ΜΕΣΟΥ LB, ΣΕ ΦΛΑΣΚΑ ΤΩΝ ΔΥΟ ΛΙΤΡΩΝ. Η ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΑΝΑΠΤΥΣΣΕΤΑΙ ΜΕ ΠΟΛΥ ΙΣΧΥΡΗ ΑΝΑΔΕΥΣΗ ΩΣΠΟΥ Η ΟΠΤΙΚΗ ΤΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ ΝΑ ΦΘΑΣΕΙ ΤΙΣ 0,45 ΜΟΝΑΔΕΣ ΚΑΙ ΟΧΙ ΠΑΡΑΠΑΝΩ. ΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕΤΑΦΕΡΟΝΤΑΙ ΣΕ ΔΥΟ ΣΩΛΗΝΕΣ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗΣ ΤΩΝ 50ML ΚΑΙ ΣΤΟ ΕΞΗΣ ΔΙΑΤΗΡΟΥΝΤΑΙ ΣΥΝΕΧΩΣ ΣΕ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ 0-4°C.

ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΜΙΑ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ, 3000RPM, 5', 4°C ΚΑΙ ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΙΖΗΜΑ ΕΠΑΝΑΔΙΑΛΥΕΤΑΙ ΣΕ 20-40ML ΚΡΥΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ TFB1 (100MM RBCL₂, 50MM MNCL₂, 30MM ΚΑC, 10MM CACL₂, 15% GLYCEROL, ΤΟ ΡΗ ΡΥΘΜΙΖΕΤΑΙ ΣΤΟ 5.8 ΜΕ 0.2M HAC).

ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΕΠΩΑΣΗ 20-40' ΣΤΟΝ ΠΑΓΟ ΚΑΙ ΜΙΑ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ, 3.000RPM, 5', 4°C.

ΤΟ ΙΖΗΜΑ ΕΠΑΝΑΔΙΑΛΥΕΤΑΙ ΣΕ 6ML ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ TFB2 (20MM MOPS ΡΗ 7.0,

100MM RBCL₂, 80MM CACL₂, 15% GLYCEROL, ΤΟ ΡΗ ΡΥΘΜΙΖΕΤΑΙ ΣΤΟ 7.0 ΜΕ 1M ΝΑΟΗ

)

ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑ ΔΙΑΜΟΙΡΑΖΕΤΑΙ ΣΕ ΙΣΟΠΟΣΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ 0,2ML. ΚΑΘΕ ΜΙΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΕΝΑΝ ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΤΥΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ (SAMBROOK ET AL, 1989).

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ RNA

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ RNA ΑΠΟ ΦΥΛΛΑ ΤΟΜΑΤΙΑΣ

1-2 GR ΦΥΛΛΩΝ ΘΡΥΜΑΤΙΖΟΝΤΑΙ ΣΕ ΓΟΥΔΙ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΥΓΡΟΥ ΑΖΩΤΟΥ ΚΑΙ ΕΚΧΥΛΙΖΟΝΤΑΙ ΣΕ 10ML TEMS (0.1M TRIS PH 7.5, 0.01M EDTA PH8.0, 0.01M Β-MERCAPTETHANOL, 0.1M NA₂CO₃) ΜΕ ΙΣΟ ΟΓΚΟ ΦΑΙΝΟΛΗ/ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟ. Η ΥΔΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ ΕΚΧΥΛΙΖΕΤΑΙ ΑΛΛΕΣ ΔΥΟ ΦΟΡΕΣ, ΚΑΤΑΚΡΗΜΝΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΑΠΟΛΥΤΗ ΑΙΘΑΝΟΛΗ ΣΤΟΥΣ -20°C ΚΑΙ ΤΟ ΙΖΗΜΑ ΞΕΠΛΕΝΕΤΑΙ ΜΕ 70% ΑΙΘΑΝΟΛΗ ΠΡΟΤΟΥ ΕΠΑΝΑΔΙΑΛΥΘΕΙ ΣΕ ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΜΕΝΟ ΝΕΡΟ.

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ RNA ΑΠΟ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ

ΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΛΥΝΟΝΤΑΙ ΜΕ ΜΗΧΑΝΙΚΟ ΤΡΟΠΟ (GLASS BEADS) ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΟΥΡΙΑΣ/SDS, ΤΟ RNA ΕΚΧΥΛΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΦΑΙΝΟΛΗ/ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟ ΚΑΙ ΚΑΤΑΚΡΗΜΝΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΑΙΘΑΝΟΛΗ.

ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΑ, ΤΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΓΙΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΩΝ 10ML ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΕΞΗΣ:

- I. ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ, 3000RPM, 5MIN.
- II. ΤΟ ΙΖΗΜΑ ΞΕΠΛΕΝΕΤΑΙ ΜΕ 5ML ΝΕΡΟ. VORTEX.
- III. ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ, 3000RPM, 5MIN.
- IV. ΤΟ ΙΖΗΜΑ ΕΠΑΝΑΔΙΑΛΥΕΤΑΙ (VORTEX) ΣΕ 0.2ML SUTEN (2% SDS, 7M UREA, 10MM TRIS 7.5, 10MM EDTA, 0.35M NaCl) ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΕΡΕΤΑΙ ΑΜΕΣΩΣ ΣΕ ΣΩΛΗΝΑΚΙΑ ΜΙΚΡΟΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗΣ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 0.2ML GLASS BEADS ΚΑΙ 0.2ML ΦΑΙΝΟΛΗ/ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟ.
- V. VORTEX 2MIN.
- VI. ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ, 14000RPM, 5MIN, ΚΑΤΑ ΠΡΟΤΙΜΗΣΗ 4°C.
- VII. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΤΟΥ ΥΠΕΡΚΕΙΜΕΝΟΥ ΜΕ ΙΣΟ ΟΓΚΟ ΦΑΙΝΟΛΗ/ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟ.
- VIII. ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ, 14000RPM, 5MIN, ΚΑΤΑ ΠΡΟΤΙΜΗΣΗ 4°C.

- IX. ΣΤΟ ΥΠΕΡΚΕΙΜΕΝΟ ΠΡΟΣΤΙΘΕΤΑΙ ΔΙΠΛΑΣΙΟΣ ΟΓΚΟΣ **ΑΠΟΛΥΤΗΣ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ** ΚΑΙ ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΚΑΤΑΚΡΗΜΝΙΣΗ ΣΤΟΥΣ -20°C ΓΙΑ ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ ΜΙΑ ΩΡΑ.
- X. ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ 14000RPM 15MIN, 4°C .
- XI. ΤΟ ΙΖΗΜΑ ΞΕΠΛΕΝΕΤΑΙ ΜΕ **70% ΑΙΘΑΝΟΛΗ** ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΔΙΑΛΥΕΤΑΙ ΣΕ 10–20ML **ΝΕΡΟ**.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΤΑ NORTHERN

ΤΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ RNA ΑΝΑΛΥΘΗΚΑΝ ΣΕ ΠΗΚΩΜΑΤΑ ΑΓΑΡΟΖΗΣ–ΦΟΡΜΑΛΔΕΥΔΗΣ ΜΕ ΑΚΟΛΟΥΘΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΣΕ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ NYLON ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΤΥΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ (SAMBROOK ET AL 1989).

ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ ΠΗΚΤΩΜΑ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΜΕ ΟΥΡΙΑ

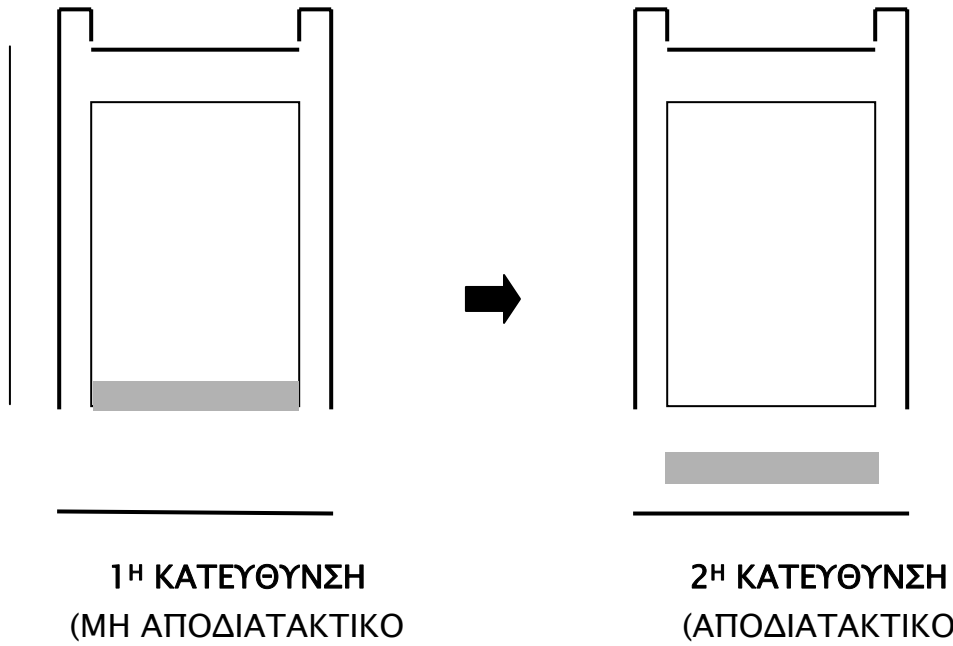
ΤΟ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ ΠΗΚΤΩΜΑ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ ΑΝΑΛΥΕΤΑΙ ΤΟ RNA ΠΕΡΙΕΧΕΙ 0.5ΧΤΒΕ, 8M ΟΥΡΙΑ ΚΑΙ 5% ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟ (ΑΠΟ ΜΕΙΓΜΑ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ/ΔΙΣΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ Η ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΕΙΝΑΙ 38/2). Η ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΣΤΑ 40V/CM, 1–2 ΩΡΕΣ.

ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΔΙΠΛΗΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ (BI-DIRECTIONAL)

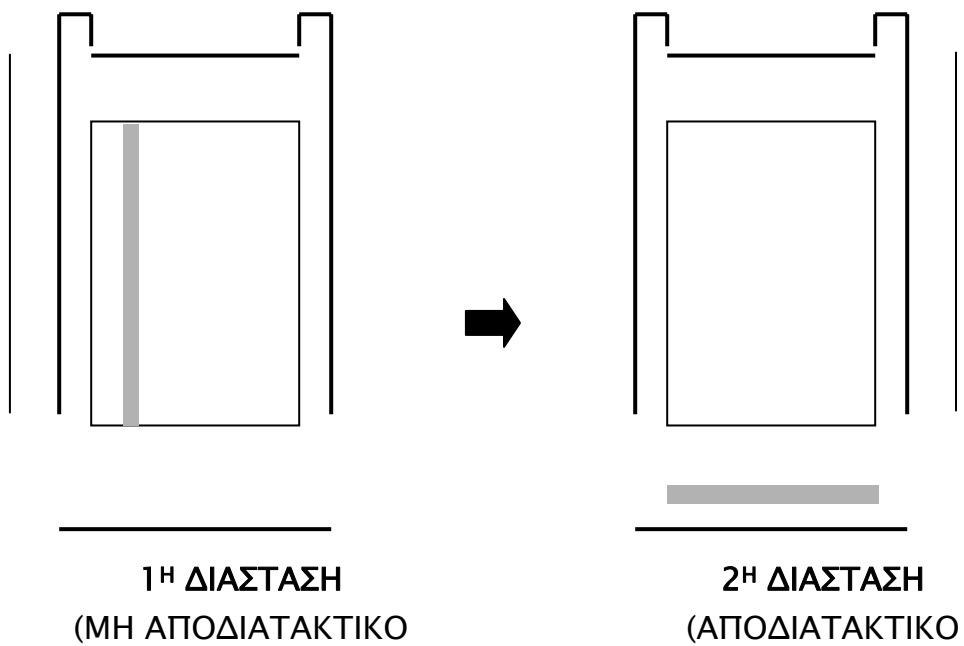
ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΑΥΤΗ ΔΙΑΧΩΡΙΖΟΝΤΑΙ ΚΥΚΛΙΚΑ ΑΠΟ ΓΡΑΜΜΙΚΑ RNA ΜΙΑΣ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΗΣ ΖΩΝΗΣ ΜΕΓΕΘΩΝ, ΣΕ ΠΟΛΛΑΠΛΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ. ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΜΙΑ ΜΗ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΗ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΠΟΥ ΑΚΟΛΟΥΘΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΜΙΑ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΗ.

ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΤΟΥ RNA ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΟΥΝΤΑΙ ΣΕ ΕΝΑ **ΜΗ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ ΠΗΚΤΩΜΑ** ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΟΠΟΥ ΔΙΑΧΩΡΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΜΕΓΕΘΟΣ ΤΟΥΣ. ΜΕΤΑ ΤΟ ΤΕΛΟΣ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ, ΚΟΒΟΥΜΕ ΜΙΑ ΟΡΙΖΟΝΤΙΑ ΛΩΡΙΔΑ ΤΟΥ ΠΗΚΤΩΜΑΤΟΣ ΠΛΑΤΟΥΣ 2–3CM ΓΥΡΩ ΑΠΟ ΤΗΝ ΘΕΣΗ ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΤΟ RNA ΤΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΠΟΥ ΜΑΣ ΕΝΔΙΑΦΕΡΕΙ. Η ΛΩΡΙΔΑ ΤΟΠΟΘΕΤΕΙΤΑΙ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΔΥΟ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΤΙΚΕΣ ΠΛΑΚΕΣ, ΣΤΗ ΒΑΣΗ ΩΣΤΕ ΑΠΟ ΠΑΝΩ ΝΑ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΤΕΙ ΕΝΑ **ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ ΠΗΚΤΩΜΑ** ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ/ΟΥΡΙΑΣ.

(Α) Ηλεκτροφόρηση διπλής κατεύθυνσης



(Β) ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ



ΣΧΗΜΑ

ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ ΔΙΠΛΗΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣ (Α) ΚΑΙ ΤΗΣ ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ (Β). Η ΛΩΡΙΔΑ, ΠΟΥ ΚΟΒΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΠΡΩΤΟ (ΜΗ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ) ΠΗΚΤΩΜΑ ΚΑΙ ΤΟΠΟΘΕΤΕΙΤΑΙ ΣΤΗΝ ΒΑΣΗ ΤΟΥ ΔΕΥΤΕΡΟΥ (ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ ΠΗΚΤΩΜΑ), ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΤΑΙ ΩΣ ΣΚΙΑΣΜΕΝΗ. ΤΑ ΒΕΛΗ ΔΕΙΧΝΟΥΝ ΤΗΝ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΤΗΣ ΕΚΑΣΤΟΤΕ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ.

ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΜΕ ΑΝΕΣΤΡΑΜΕΝΟΥΣ ΤΟΥΣ ΠΟΛΟΥΣ ΩΣΤΕ ΤΑ RNA ΝΑ ΕΓΚΑΤΑΛΕΙΨΟΥΝ ΤΗΝ ΛΩΡΙΔΑ ΚΑΙ ΝΑ ΜΠΟΥΝ ΣΤΟ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ ΠΗΚΤΩΜΑ ΟΠΟΥ ΘΑ ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΟΥΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΓΡΑΜΜΙΚΗ Η ΤΗΝ ΚΥΚΛΙΚΗ ΜΟΡΦΗ ΤΟΥΣ. ΤΑ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΘΑ ΠΡΟΧΩΡΗΣΟΥΝ ΠΡΟΣ ΤΑ ΠΑΝΩ ΕΝΩ ΤΑ ΚΥΚΛΙΚΑ ΚΑΘΥΣΤΕΡΟΥΝ ΔΙΟΤΙ ΚΑΘΩΣ ΑΠΟΔΙΑΤΑΣΣΟΝΤΑΙ ΜΕΙΩΝΕΤΑΙ Η ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥΣ. ΟΙ ΛΕΠΤΟΜΕΡΕΙΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΕΡΙΓΡΑΦΟΝΤΑΙ ΑΛΛΟΥ (SCHUMACHER, J. ET AL, 1983).

ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ (2-DIMENSIONAL)

ΧΡΗΣΙΜΕΥΕΙ ΣΤΟ ΝΑ ΕΝΤΟΠΙΣΤΟΥΝ ΚΥΚΛΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΜΕΓΕΘΩΝ ΓΡΑΜΜΙΚΑ ΜΟΡΙΑ ΕΝΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ RNA. ΠΡΟΚΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΕΝΑΝ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΙΑΣ ΜΗ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΙΑΣ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ.

ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΕΙΤΑΙ ΣΕ ΜΗ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ ΠΗΚΤΩΜΑ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΩΣΤΕ ΝΑ ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΟΥΝ ΤΑ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΜΕΓΕΘΩΝ RNA. Η ΚΑΘΕΤΗ ΛΩΡΙΔΑ ΣΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΕΤΡΕΞΕ ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ ΚΟΒΕΤΑΙ ΚΑΙ ΤΟΠΟΘΕΤΕΙΤΑΙ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΔΥΟ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΤΙΚΕΣ ΠΛΑΚΕΣ, ΣΤΗ ΒΑΣΗ ΩΣΤΕ ΑΠΟ ΠΑΝΩ ΝΑ ΠΟΛΥΜΕΡΙΣΤΕΙ ΕΝΑ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ ΠΗΚΤΩΜΑ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ/ΟΥΡΙΑΣ. ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΜΕ ΑΝΕΣΤΡΑΜΕΝΟΥΣ ΤΟΥΣ ΠΟΛΟΥΣ ΩΣΤΕ ΤΑ RNA ΝΑ ΕΓΚΑΤΑΛΕΙΨΟΥΝ ΤΗΝ ΛΩΡΙΔΑ ΚΑΙ ΝΑ ΜΠΟΥΝ ΣΤΟ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ ΠΗΚΤΩΜΑ. ΕΚΕΙ ΤΑ ΚΥΚΛΙΚΑ ΜΟΡΙΑ ΚΙΝΟΥΝΤΑΙ ΠΙΟ ΑΡΓΑ ΑΠΟ ΤΑ ΓΡΑΜΜΙΚΑ (SCHUMACHER, J. ET AL, 1983).

ΗΛΕΚΤΡΟΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΟΥ RNA

ΤΟ RNA ΜΕΤΑΦΕΡΘΗΚΕ ΑΠΟ ΤΑ ΠΗΚΤΩΜΑΤΑ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΣΕ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ NYLON ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΜΕΤΑΦΟΡΑ, ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ 0.025M $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ (PH 6.5), 0.25A ΚΑΙ 9V ΓΙΑ 1-2 ΩΡΕΣ ΚΑΙ ΣΤΗ ΣΥΝΕΧΕΙΑ 1A ΚΑΙ 26V ΓΙΑ 1-2 ΩΡΕΣ.

ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ RNA-RNA

ΤΑ ΦΙΛΤΡΑ ΣΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΧΕΙ ΜΕΤΑΦΕΡΘΕΙ ΤΟ RNA, ΠΡΟ-ΥΒΡΙΔΙΖΟΝΤΑΙ ΓΙΑ ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ ΔΥΟ ΩΡΕΣ ΣΤΟΥΣ 65°C ΣΤΟ ΔΙΑΛΥΜΑ ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΥ [5XSSC, 1X DENHARDT'S (SAMBROOK ET AL

1989), 1%SDS, 50% DEIONIZED FORMAMIDE, 250MGR/ML TRNA]. Ο ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΓΙΝΕΤΑΙ ΟΛΟΝΥΚΤΙΩΣ ΣΤΟΥΣ 65°C ΜΕ 1 000 000 CPM / ML .

ΤΑ ΦΙΛΤΡΑ ΞΕΠΛΕΝΟΝΤΑΙ ΩΣ ΕΞΗΣ:

- I. 2X5', ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΔΩΜΑΤΙΟΥ, ΣΕ 2XSSC
- II. 2X30', 65°C, ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΙ 2XSSC ΚΑΙ 0.5%SDS
- III. 2X30', ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΔΩΜΑΤΙΟΥ, ΣΕ 0.1XSSC

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΡΑΔΙΟΣΗΜΑΣΜΕΝΟΥ RNA

ΤΟ ΡΑΔΙΟΣΗΜΑΣΜΕΝΟ RNA ΠΑΡΑΓΕΤΑΙ ΜΕ *IN VITRO* ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΑΠΟ SP6 Η T7 ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ, ΜΕ ΡΑΔΙΕΝΕΡΓΟ 32P-UTP ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΤΥΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ (SAMBROOK ET AL 1989). ΤΑ ΡΑΔΙΟΣΗΜΑΣΜΕΝΑ ΜΕΤΑΓΡΑΦΑ ΔΙΑΧΩΡΙΖΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΑ ΕΛΕΥΘΕΡΑ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΑ ΜΕ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΔΙΗΘΗΣΗΣ ΣΕ ΣΦΑΙΡΙΔΙΑ ΑΓΑΡΟΖΗΣ (BIOGEL A-0.5M, BIORAD).

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΚΑΙ RNA

ΑΝΑΛΥΣΗ NORTHWESTERN (SAEGESSER ET AL 1997)

- I. ΤΑ ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΟΝΤΑΙ ΣΕ ΕΝΑ ΜΙΚΡΟ ΑΠΟΔΙΑΤΑΚΤΙΚΟ ΠΗΚΤΩΜΑ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ 10% (SDS-PAGE) ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΥΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ (SAMBROOK ET AL, 1989).
- II. ΟΤΑΝ ΤΟ ΠΗΚΤΩΜΑ ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΘΕΙ ΑΠΟ ΤΙΣ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΤΙΚΕΣ ΠΛΑΚΕΣ, ΕΜΠΟΤΙΖΕΤΑΙ 30' ΣΕ 1XTRANSFER BUFFER (25MM TRIS, 200MM GLYCINE, 20% METHANOL).
- III. ΟΙ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΜΕΤΑΦΕΡΟΝΤΑΙ ΣΕ ΜΙΑ ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΝΙΤΡΟΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ, ΣΕ 1XTRANSFER BUFFER, ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΜΕΤΑΦΟΡΑ ΣΤΑ 400ΜΑ ΚΑΙ 80V, 3-4H, 4°C.

- IV. ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΜΕΤΑΦΟΡΑ Η ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΕΜΠΟΤΙΖΕΤΑΙ ΓΙΑ ΤΟΥΛΑΧΙΣΤΟΝ 18 ΩΡΕΣ, ΜΕ ΑΝΑΚΙΝΗΣΗ ΣΤΟΥΣ 4°C, ΣΕ **BUFFER A** (15MM HEPES PH 7.9, 50MM KCL, 0.1% FICOLL 400, 0.1% PVP-40, 0.01% NP-40, 0.1MM MNCL₂, 0.1MM ZNCL₂, 0.1MM EDTA ΚΑΙ 0.5MM DTT).
- V. Η ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΞΕΠΛΕΝΕΤΑΙ ΔΥΟ ΦΟΡΕΣ ΜΕ **BUFFER A**, 5 ' , ΜΕ ΑΝΑΚΙΝΗΣΗ.
- VI. ΠΡΟ-ΕΠΩΑΣΗ 30 ' ΣΕ 10ML **BUFFER A** ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΧΕΙ ΔΙΑΛΥΘΕΙ **TRNA** ΣΕ ΤΕΛΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ 0.1MG/ML.
- VII. ΠΡΟΣΤΙΘΕΤΑΙ Ο ΡΑΔΙΟΣΗΜΑΣΜΕΝΟΣ RNA ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ ΣΕ ΜΙΑ ΤΕΛΙΚΗ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ 250-500 000 CPM/ML ΚΑΙ ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΕΠΩΑΣΗ, 2H, 4°C, ΜΕ ΑΝΑΚΙΝΗΣΗ.
- VIII. Η ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΞΕΠΛΕΝΕΤΑΙ 4 ΦΟΡΕΣ, 5 ' ΚΑΘΕ ΦΟΡΑ, ΜΕ **BUFFER A**.
- IX. ΣΤΕΓΝΩΜΑ ΤΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΚΑΙ ΕΚΘΕΣΗ.

ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ

Ο ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΘΗΚΕ ΣΕ ΥΓΡΑ ΚΑΙ ΣΤΕΡΕΑ ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΜΕΣΑ MINIMAL, ΥΡD, GNA ΚΑΙ SPORULATION, ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΑ ΤΥΠΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ (AUSUBEL ET AL 1987).

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ *S. CEREVISIAE* ΕΝΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΤΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΠΟΥ ΠΕΡΙΓΡΑΦΕΤΑΙ ΣΤΗ ΣΥΝΕΧΕΙΑ ΕΙΝΑΙ ΕΝΑΣ ΚΥΚΛΟΣ ΕΝΓΕΝΟΥΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ. ΑΝΑΠΤΥΧΘΗΚΕ ΓΙΑ ΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ DKB96 ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΣΤΗΚΕ ΑΛΛΕΠΑΛΛΗΛΩΣ ΓΙΑ 16 ΦΟΡΕΣ. ΟΙ ΕΠΩΑΣΕΙΣ ΓΙΝΟΝΤΑΙ ΣΤΟΥΣ 30°C.

I. ΣΠΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ

ΤΑ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΝΤΑΙ Ο/Ν ΣΕ ΤΡΥΒΛΙΑ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ ΣΤΕΡΕΟ ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΜΕΣΟ GNA Η ΥΕΡ. Η ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ, ΠΟΥ ΕΧΕΙ ΜΕΓΕΘΟΣ ~2CM², ΜΕΤΑΦΕΡΕΤΑΙ ΣΕ

ΤΡΥΒΛΙΑ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ ΣΤΕΡΕΟ ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΜΕΣΟ SPO, ΟΠΟΥ ΠΑΡΑΜΕΝΕΙ ΓΙΑ ΔΥΟ ΜΕ ΤΡΕΙΣ ΗΜΕΡΕΣ. ΤΑ ΤΡΥΒΛΙΑ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΣΕ ΚΑΛΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ (ΟΧΙ ΞΗΡΑ, ΟΧΙ ΠΑΛΑΙΟΤΕΡΑ ΑΠΟ 4-6 ΕΒΔΟΜΑΔΕΣ).

ΑΝ Η ΣΠΟΡΙΟΠΙΟΗΣΗ ΠΕΤΥΧΕΙ, ΤΟΤΕ ΣΤΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ, ΣΤΟΥΣ ΦΑΚΟΥΣ 40X ΚΑΙ 100X, Ο ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΕΝΑΙ ΕΝΑ ΜΙΓΜΑ ΠΕΡΙΠΟΥ ΕΝΑ ΠΡΟΣ ΕΝΑ ΑΓΕΝΩΝ ΔΙΠΛΟΕΙΔΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΑΣΚΟΣΠΟΡΙΩΝ ΠΟΥ ΤΟ ΚΑΘΕΝΑ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΤΕΣΣΕΡΑ ΣΠΟΡΙΑ.

II. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΣΠΟΡΙΩΝ

ΠΕΡΙΠΟΥ ΤΟ 1/4 ΤΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ~2CM² ΜΕΤΑΦΕΡΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ SPO ΤΡΥΒΛΙΟ ΣΕ ΕΝΑ ΣΩΛΗΝΑΚΙ ΜΙΚΡΟΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗΣ ΤΩΝ 1.5ML. ΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΔΙΑΛΥΟΝΤΑΙ ΣΕ 0.2ML ΝΕΡΟ. Η ΔΙΑΛΥΣΗ ΓΙΝΕΤΑΙ ΣΤΑΔΙΑΚΑ, ΜΕ ΤΗΝ ΑΚΡΗ ΤΟΥ ΤΙΡ, ΞΕΚΙΝΩΝΤΑΣ ΑΠΟ 0.01-0.02ML. ΑΦΟΥ ΤΟ ΜΕΙΓΜΑ ΓΙΝΕΙ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΣ ΠΡΟΣΤΙΘΕΝΤΑΙ ΑΛΛΑ 0.05ML ΚΑΙ ΑΦΟΥ ΚΑΙ ΑΥΤΟ ΓΙΝΕΙ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΣ, ΠΡΟΣΤΙΘΕΝΤΑΙ ΤΑ ΥΠΟΛΟΙΠΑ 0.15ML.

ΣΤΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑ ΠΡΟΣΤΙΘΕΝΤΑΙ 0.01ML GLASS BEADS ΚΑΙ 0.01-0.02ML

B-GLUCURONIDASE 123 000 UNITS/ML (SIGMA G-2887). ΑΚΟΛΟΥΘΕΙ ΕΠΩΑΣΗ ΣΤΟΥΣ 30°C ΓΙΑ 3 ΩΡΕΣ ΜΕ ΠΕΡΙΟΔΙΚΕΣ ΑΝΑΤΑΡΑΞΕΙΣ. ΠΕΡΙΔΙΝΗΣΗ 3'. ΤΟ ΕΝΑΙΩΣΗΜΑ ΜΕΤΑΦΕΡΕΤΑΙ ΣΕ ΕΝΑ ΑΛΛΟ ΣΩΛΗΝΑΚΙ ΚΑΙ Ο ΟΓΚΟΣ ΑΥΞΑΝΕΤΑΙ ΣΤΑ 0.5ML. ΥΠΕΡΗΧΗΣΗ 3x1'. ΣΤΑ ΕΝΔΙΑΜΕΣΑ ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ ΤΟΠΟΘΕΤΕΙΤΑΙ ΣΤΟΝ ΠΑΓΟ.

ΣΤΟ ΤΕΛΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ ΤΑ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ ΘΑ ΕΧΟΥΝ ΠΕΘΑΝΕΙ ΚΑΙ ΟΙ ΑΣΚΟΙ ΤΩΝ ΑΣΚΟΣΠΟΡΙΩΝ ΘΑ ΕΧΟΥΝ ΛΥΘΕΙ, ΕΤΣΙ ΣΤΟ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑ ΘΑ ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΜΟΝΟ ΤΑ ΜΙΚΡΑ ΣΤΡΟΓΓΥΛΑ ΣΠΟΡΙΑ ΠΟΥ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΘΗΚΑΝ.

ΤΟ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΕΙΤΑΙ ΓΙΑ 5-10'', ΞΕΠΛΕΝΕΤΑΙ ΜΕ 0.5ML ΝΕΡΟ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΔΙΑΛΥΕΤΑΙ ΣΕ 0.01-0.02ML ΝΕΡΟ. ΤΟ ΤΕΛΙΚΟ ΠΥΚΝΟ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΥΠΟΒΛΗΘΕΙ ΣΕ ΣΥΖΕΥΞΗ. ΜΠΟΡΕΙ ΕΠΙΣΗΣ ΝΑ ΓΙΝΕΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΠΛΟΕΙΔΕΙΑΣ, ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΔΙΑΠΙΣΤΩΘΕΙ ΑΝ ΠΡΑΓΜΑΤΙ ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΔΕΝ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ.

III. ΣΥΖΕΥΞΗ

ΜΙΑ ΣΤΑΓΟΝΑ 0.005ML ΔΗΛ. ΤΟ 1/4 ΤΟΥ ΤΕΛΙΚΟΥ ΠΥΚΝΟΥ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ ΤΟΠΟΘΕΤΕΙΤΑΙ ΣΕ ΕΝΑ ΤΡΥΒΛΙΟ ΜΕ ΣΤΕΡΕΟ ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΜΕΣΟ GNA Η ΥΕΡ ΚΑΙ ΑΦΟΥ

ΣΤΕΓΝΩΣΕΙ ΕΠΩΖΕΤΑΙ ΓΙΑ ΜΙΑ ΗΜΕΡΑ. ΤΑ ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΣΠΟΡΙΑ ΘΑ ΣΥΖΕΥΧΘΟΥΝ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ ΚΑΙ Η ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΠΟΥ ΑΝΑΠΤΥΣΣΕΤΑΙ ΘΑ ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΣΧΕΔΟΝ ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ.

ΕΔΩ ΤΕΛΕΙΩΝΕΙ ΕΝΑΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ. ΠΡΟΚΕΙΜΕΝΟΥ ΝΑ ΞΕΚΙΝΗΣΕΙ ΕΝΑΣ ΝΕΟΣ, ΤΑ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΘΑ ΥΠΟΒΛΗΘΟΥΝ ΣΕ ΣΠΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΘΑ ΕΠΑΝΑΛΗΦΘΕΙ ΚΟΚ.

IV. ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΠΛΟΕΙΔΕΙΑΣ

ΑΠΟ ΤΟ ΤΕΛΙΚΟ ΠΥΚΝΟ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑ ΤΩΝ ΣΠΟΡΩΝ, 0.001 ML ΑΡΑΙΩΝΕΤΑΙ ΣΕ 1 ML ΝΕΡΟ. 0.01ML ΑΠΛΩΝΟΝΤΑΙ ΣΕ ΕΝΑ ΤΡΥΒΛΙΟ ΥΕΡ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΠΟΜΕΝΗ ΗΜΕΡΑ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΑΠΟΙΚΙΕΣ. ΑΝ ΚΑΘΕ ΜΙΑ ΑΠΟ ΑΥΤΕΣ ΤΙΣ ΑΠΟΙΚΙΕΣ ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΤΕ ΘΑ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΣΥΖΕΥΧΘΕΙ ΜΕ ΑΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΑΝΤΙΘΕΤΟΥ ΣΥΖΕΥΚΤΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ, ΔΗΛ. ΕΙΤΕ ΜΕ ΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ 1Β ΕΙΤΕ ΜΕ ΤΟ 2Β. ΑΝ ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ, ΔΕΝ ΘΑ ΣΥΖΕΥΓΝΕΤΑΙ ΜΕ ΚΑΝΕΝΑ.

ΓΙΑ ΝΑ ΔΗΜΙΟΥΡΓΗΘΟΥΝ ΔΙΔΥΜΑ ΑΝΤΙΓΡΑΦΑ ΤΗΣ ΚΑΘΕ ΑΠΟΙΚΙΑΣ, ΤΟ ΤΡΥΒΛΙΟ ΑΥΤΟ ΧΡΗΣΙΜΕΥΕΙ ΩΣ ΜΗΤΡΑ ΓΙΑ REPLICA-PLATING, ΜΕ ΒΕΛΟΥΔΟ ΥΦΑΣΜΑ, ΣΕ ΔΥΟ ΤΡΥΒΛΙΑ ΥΕΡ. ΚΑΘΕ ΑΠΟΙΚΙΑ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ ΥΠΑΡΧΕΙ ΤΩΡΑ ΚΑΙ ΣΤΑ ΔΥΟ ΔΙΔΥΜΑ ΑΝΤΙΓΡΑΦΑ ΤΡΥΒΛΙΑ. ΤΗΝ ΙΔΙΑ ΜΕΡΑ ΑΠΛΩΝΕΤΑΙ ΕΝΑ ΠΥΚΝΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ 1Β ΣΕ ΕΝΑ ΥΕΡ ΤΡΥΒΛΙΟ ΩΣΤΕ ΝΑ ΑΝΑΠΤΥΧΘΕΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΧΛΟΗ ΚΑΙ ΤΟ ΙΔΙΟ ΓΙΝΕΤΑΙ ΓΙΑ ΤΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ 2Β.

ΤΗΝ ΕΠΟΜΕΝΗ ΗΜΕΡΑ ΤΟ ΕΝΑ ΔΙΔΥΜΟ ΤΡΥΒΛΙΟ ΣΥΝΑΝΤΙΓΡΑΦΕΤΑΙ, ΜΕΣΩ ΕΝΟΣ ΚΟΜΜΑΤΙΟΥ ΑΠΟ ΒΕΛΟΥΔΟ ΥΦΑΣΜΑ, ΜΕ ΤΗΝ ΧΛΟΗ 1Β ΣΤΟ ΙΔΙΟ ΚΑΘΑΡΟ ΤΡΥΒΛΙΟ ΥΕΡ, ΕΝΩ ΤΟ ΑΛΛΟ ΑΝΤΙΓΡΑΦΟ ΣΥΝΑΝΤΙΓΡΑΦΕΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΧΛΟΗ 2Β ΣΕ ΕΝΑ ΑΛΛΟ ΤΡΥΒΛΙΟ. ΜΙΑ ΝΥΚΤΑ ΕΙΝΑΙ ΑΡΚΕΤΗ ΓΙΑ ΝΑ ΓΙΝΕΙ Η ΣΥΖΕΥΞΗ ΤΗΣ ΚΑΘΕ ΔΙΔΥΜΗΣ DKB96 ΑΠΟΙΚΙΑΣ, ΕΙΤΕ ΜΕ ΤΗΝ ΧΛΟΗ 1Β ΕΙΤΕ ΜΕ ΤΗΝ 2Β.

ΤΗΝ ΕΠΟΜΕΝΗ ΚΑΘΕ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ ΣΥΖΕΥΚΤΙΚΑ ΥΕΡ ΤΡΥΒΛΙΑ ΑΝΤΙΓΡΑΦΕΤΑΙ ΣΕ ΕΝΑ ΕΠΙΛΕΚΤΙΚΟ ΤΡΥΒΛΙΟ ΜΙΝ ΟΠΟΥ ΘΑ ΑΝΑΠΤΥΧΘΟΥΝ ΜΟΝΑΧΑ ΤΑ ΔΙΠΛΟΕΙΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΠΡΟΚΥΨΕΙ. ΚΑΘΕ ΑΠΛΟΕΙΔΗΣ ΔΙΔΥΜΗ ΑΠΟΙΚΙΑ ΤΩΝ ΣΥΖΕΥΚΤΙΚΩΝ ΤΡΥΒΛΙΩΝ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΜΟΝΟ ΣΕ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΔΥΟ ΕΠΙΛΕΚΤΙΚΑ ΤΡΥΒΛΙΑ, ΕΝΩ ΟΙ ΔΙΠΛΟΕΙΔΕΙΣ ΑΠΟΙΚΙΕΣ ΔΕΝ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ.

Δοκιμες β-γαλακτοσιδασης

ΟΙ ΔΟΚΙΜΕΣ ΤΗΣ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗΣ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΤΩΝ 2-8ML ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΚΑΘΙΕΡΩΜΕΝΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ (AUSUBEL ET AL 1987). ΓΙΑ ΤΟΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟ ΤΩΝ ΜΟΝΑΔΩΝ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ Ο ΤΥΠΟΣ $OD_{420} \times 1000 / OD_{550} \times V(ML) \times T(SEC)$. ΟΙ ΧΡΟΝΟΣ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ ΗΤΑΝ ΑΠΟ 10' ΕΩΣ 2 ΩΡΕΣ.

ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ *S. CEREVISIAE*

Ο ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΤΟΥ *S. CEREVISIAE* ΕΓΙΝΕ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ΛΙΘΙΟΥ (AUSUBEL ET AL 1987).

ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ *S. POMBE*

Ο ΜΕΤΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΤΟΥ *S. POMBE* ΕΓΙΝΕ ΜΕ ΛΙΘΙΟ ΚΑΙ PEG (MORENO ET AL, 1990).

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

B

BALACHADRAN S., XIANG YU, SCHOBERT C., THOMPSON G. A. AND LUCAS W. J. (1997) PHLOEM SAP PROTEINS FROM *CUCURBITA MAXIMA* AND *RICINUS COMMUNIS* HAVE THE CAPACITY TO TRAFFIC CELL TO CELL THROUGH PLASMODESMATA. *PROC. NATL. ACAD. SCI.* **94**, 14150–14155

BAULCOMBE D. C. (1999) FAST FORWARD GENETICS BASED ON VIRUS-INDUCED GENE SILENCING. *CURRENT OPINION IN PLANT BIOLOGY* **12**, 109–113

BAUMSTARK T. AND RIESNER D. (1995) ONLY ONE OF FOUR POSSIBLE SECONDARY STRUCTURES OF THE CENTRAL CONSERVED REGION OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID IS A SUBSTRATE FOR PROCESSING IN A POTATO NUCLEAR EXTRACT. *NUCLEIC ACIDS RES.* **23**, 4246–4254

BAUMSTARK T., SCHROEDER A. R. W. AND RIESNER D. (1997) VIROID PROCESSING: SWITCH FROM CLEAVAGE TO LIGATION IS DRIVEN BY A CHANGE FROM A TETRALOOP TO A LOOP E CONFORMATION. *EMBO J.* **16**, 599–610

BEIER H., SILER D. J., RUSSEL M. L. AND BRUENING G. (1977) SURVEY OF SUSCEPTIBILITY TO COWPEA MOSAIC VIRUS AMONG PROTOPLASTS AND INTACT PLANTS FROM *VIGNA SINENSIS* LINES. *PHYTOPATHOLOGY* **67**, 917–921

BERLIN J., WRAY V., FORCHE E., RENG H.-G., SCHULER H., LUCKINGER R. AND MUHLBACH H.-P. (1985) PRODUCTION OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTV) BY LARGE SCALE FERMENTATION OF PSTV-INFECTED POTATO CELL SUSPENSION CULTURES. *J. EXPER. BOTANY* **36**, 1985–1995

BRANCH A. D., ROBERTSON H. D., GREER C., GEGENHEIMER P., PEEBLES C. AND ABELSON J. (1982) CELL-FREE CIRCULARIZATION OF VIROID PROGENY RNA BY AN RNA LIGASE FROM WHEAT GERM. *SCIENCE* **217**, 1147–1149

BRANCH A. D. AND ROBERTSON H. D. (1984) A REPLICATION CYCLE FOR VIROIDS AND OTHER SMALL INFECTIOUS RNA'S. *SCIENCE* **223**, 450–455

C

CARRINGTON J. C., KASSCHAU K. D., MAHAJAN S. K. AND SCHAAD M. C. (1996) CELL-TO-CELL AND LONG DISTANCE TRANSPORT OF VIRUSES IN PLANTS. *PLANT CELL* **8**, 1669–1681

COGONI C. AND MACINO G. (1997) CONSERVATION OF TRANSGENE-INDUCED POST-TRANSCRIPTIONAL GENE SILENCING IN PLANTS AND FUNGI. *TRENDS IN PLANT SCIENCES* **2** 438–443

COGONI C. AND MACINO G. (1999) GENE SILENCING IN *NEUROSPORA CRASSA* REQUIRES A PROTEIN HOMOLOGOUS TO RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE. *NATURE* **399** 166–169

CRAWFORD K.M. AND ZAMBRYSKI P. C. (1999) PHLOEM TRANSPORT: ARE YOU CHAPERONED? *CURRENT BIOLOGY* **9**, 281–285

D

DING B., KWON M.-O., HAMMOND R. AND OWENS R. (1997) CELL-TO-CELL MOVEMENT OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID. *PLANT J.* **12**, 931–936

E

ESTEBAN L. M., RODRIGUES-COUSINO N. AND ESTEBAN R. (1992) T DOUBLE-STRANDED RNA (DSRNA) SEQUENCE REVEALS THAT T AND W DSRNAS FORM A NEW RNA FAMILY IN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*. *J. BIOL. CHEM.* **267**, 10874-10881

F

FERNOW K. H., PETERSON L. C. AND PLAISTED R. L. (1970) SPINDLE TUBER VIRUS IN SEEDS AND POLLEN OF INFECTED POTATO PLANTS. *AMERICAN POTATO J.* **47**, 75-70

FIRE A. (1999) RNA-TRIGGERED GENE SILENCING. *TRENDS IN GENETICS* **15**, 358-363

FIRE A., XU S., MONTGOMERY M. K., KOSTAS S., DRIVER S. E. AND MELLO C. C. (1998) POTENT AND SPECIFIC GENETIC INTERFERENCE BY DOUBLE-STRANDED RNA IN *CAENORHABDITIS ELEGANS*. *NATURE* **391**, 806-811

FLORES R. AND SEMANCIK J. S. (1982) PROPERTIES OF A CELL-FREE SYSTEM FOR SYNTHESIS OF CITRUS EXOCORTIS VIROID. *PROC. NATL. ACAD. SCI.* **79**, 6285-6288

G

GARDNER R. C., CHONOLES K. R. AND OWENS R. A. (1986) POTATO SPINDLE TUBER VIROID INFECTIONS MEDIATED BY THE TI PLASMID OF *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS*. *PLANT MOL. BIOL.* **6**, 221-228

GAST F., KEMPE D., SPIEKER R. L. AND SANGER H. L. (1996) SECONDARY STRUCTURE PROBING OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTVD) AND SEQUENCE COMPARISON WITH OTHER SMALL PATHOGENIC RNA REPLICONS PROVIDES EVIDENCE FOR CENTRAL NON-CANONICAL BASE-PAIRS, LARGE A-RICH LOOPS, AND A TERMINAL BRANCH. *J. MOL. BIOL.* **262**, 652-670

GHOSHROY S., LARTEY R., SHENG J. AND CITOVSKY V. (1997) TRANSPORT OF PROTEINS AND NUCLEIC ACIDS THROUGH PLASMODESMATA. *ANNU. REV. PLANT PHYSIOL. PLANT MOL. BIOL.* **48**, 27-50

GILBERTSON R. L. AND LUCAS W. J. (1996) HOW DO VIRUSES TRAVEL ON THE VASCULAR HIGHWAY. *TRENDS IN PLANT SCI.* **1**, 260-268

GOLECKI B., SCHULZ A. AND THOMPSON G. A. (1999) TRANSLOCATION OF STRUCTURAL P PROTEINS IN THE PHLOEM. *THE PLANT CELL* **11**, 127-140

GOOD P. D. AND ENGELKE D. R. (1994) YEAST EXPRESSION VECTORS USING RNA POLYMERASE III PROMOTERS. *GENE* **151**, 209-214

GORA-SOCHACKA A., KIERZEK A., CANDRESSE T. AND ZAGORSKI W. (1997) THE GENETIC STABILITY OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTVD) MOLECULAR VARIANTS. *RNA* **3**, 68-74

GRANT S. R. (1999) DISSECTING THE MECHANISMS OF POSTTRANSCRIPTIONAL GENE SILENCING: DIVIDE AND CONQUER. *CELL* **96** 303-306

GROSS H. J., DOMDEY H., LOSSOW C., JANK P., RABA M., ALBERTY H. AND SANGER H. L. (1978) NUCLEOTIDE SEQUENCE AND SECONDARY STRUCTURE OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID. *NATURE* **273**, 203-208

GRUNER R., FELS A., QU F., ZIMMAT R., STEGER G. AND RIESNER D. (1995) INTERDEPENDENCE OF PATHOGENICITY AND REPLICABILITY WITH POTATO SPINDLE TUBER VIROID. *VIROLOGY* **209**, 60-69

H

HAMMOND R. W. AND OWENS R. A. (1987) MUTATIONAL ANALYSIS OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID REVEALS COMPLEX RELATIONSHIPS BETWEEN STRUCTURE AND INFECTIVITY. *PROC. NATL. ACAD. SCI.* **84**, 3967–3971

HAMMOND R., SMITH D. R. AND DIENER T. O. (1989) NUCLEOTIDE SEQUENCE AND PROPOSED SECONDARY STRUCTURE OF *COLUMNEA* LATENT VIROID: A NATURAL MOSAIC OF VIROID SEQUENCES. *NUCLEIC ACIDS RES.* **17**, 10083–10094

HAMMOND R. W. (1992) ANALYSIS OF THE VIRULENCE MODULATING REGION OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTVD) BY SITE-DIRECTED MUTAGENESIS. *VIROLOGY* **187**, 654–662

HAMMMOND R. W. (1994) AGROBACTERIUM-MEDIATED INOCULATION OF PSTVD CDNAS ONTO TOMATO REVEALS THE BIOLOGICAL EFFECTS OF APPARENTLY LETHAL MUTATIONS. *VIROLOGY* **201**, 36–45

HARDERS J., LUKACS N., ROBERT-NICOUD M., JOVIN T. M. AND RIESNER D. (1989) IMAGING OF VIROIDS IN NUCLEI FROM TOMATO LEAF TISSUE BY *IN SITU* HYBRIDIZATION AND CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPY. *EMBO J.* **8**, 3941–3949

HASELOFF J., MOHAMED N. A. AND SYMONS R. H. (1982) VIROID RNAS OF CADANG-CADANG DISEASE OF COCONUTS. *NATURE* **299**, 316–321

HERNANDEZ C., ELENA S. F., MOYA A. AND FLORES R. (1992) PEAR BLISTER CANCER VIROID IS A MEMBER OF THE APPLE SCAR SKIN SUBGROUP (APSCAVIROIDS) AND ALSO HAS SEQUENCE HOMOLOGY WITH VIROIDS FROM OTHER SUBGROUPS. *J. GEN. VIR.* **73**, 2503–2507

HEROLD T., HAAS B., SINGH R. P., BOUCHER A. AND SANGER H. L. (1992) SEQUENCE ANALYSIS OF FIVE NEW FIELD ISOLATES DEMONSTRATES THAT THE CHAIN LENGTH OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTVD) IS NOT STRICTLY CONSERVED BUT AS VARIABLE AS IN OTHER VIROIDS. *PLANT MOL. BIOL.* **19**, 329–333

Hill JE, Myers AM, Koerner TJ, Tzagoloff A (1986) Yeast/*E. coli* shuttle vectors with multiple unique restriction sites. *Yeast* **2**, 163–167

HOLLAND J., SPINDLER K., HORODYSKI F., GRABAU E., NICHOL S. AND VANDEPOL S. (1982) RAPID EVOLUTION OF RNA GENOMES. *SCIENCE* **215**, 1577–1585

HU Y., FELDSTEIN P. A., BOTTINO P. J. AND OWENS R. A. (1996) ROLE OF THE VARIABLE DOMAIN IN MODULATING POTATO SPINDLE TUBER VIROID REPLICATION. *VIROLOGY* **219**, 45–56

HUNTER C. C. (1999) A TOUCH OF ELEGANCE WITH RNAI. *CURRENT BIOLOGY* **9**, 440–442

HUNTER D. E., DARLING H. M. AND BEALE W. L. (1969) SEED TRANSMISSION OF POTATO SPINDLE TUBER VIRUS. *AMERICAN POTATO J.* **46**, 247–250

I

IMLAU A., TRUERNIT E. AND SAUER N. (1999) CELL-TO-CELL AND LONG DISTANCE TRAFFICKING OF THE GREEN FLUORESCENT PROTEIN IN THE PHLOEM AND SYMPLASTIC UNLOADING OF THE PROTEIN INTO SINK TISSUES. *THE PLANT CELL* **11**, 309–322

IZZARUALDE E. AND ADAM S. (1998) TRANSPORT OF MACROMOLECULES BETWEEN THE NUCLEUS AND THE CYTOPLASM. *RNA* **4**, 351–364

J

JANDA M. AND AHLQUIST P. (1993) RNA-DEPENDENT REPLICATION, TRANSCRIPTION, AND PERSISTENCE OF BROME MOSAIC VIRUS RNA REPLICONS IN *S. CEREVISIAE*. *CELL* **72** 961-970

Jorgensen R A, Atkinson R G, Forster R L S and Lucas W J (1998) An RNA based information superhighway in plants. *Science* **279** 1486-1487

K

KEESE P. AND SYMONS R. H. (1985) DOMAINS IN VIROIDS: EVIDENCE OF INTERMOLECULAR RNA REARRANGEMENTS AND THEIR CONTRIBUTION TO VIROID EVOLUTION. *PROC. NATL. ACAD. SCI.* **82** 4582-4586

KOLTUNOW A. M. AND REZAIAN M. A. (1989) A SCHEME FOR VIROID CLASSIFICATION. *INTERVIROLOGY* **30**, 194-201

KONDAKOVA O. A., MALYSHENKO S. I., MOZHAIEVA K. A., VASILIEVA T. YA., TALIANSKY M. E. AND ATABEKOV J. G. (1989) POTATO SPINDLE TUBER VIROID DOES NOT COMPLEMENT TOBACCO MOSAIC VIRUS TEMPERATURE SENSITIVE TRANSPORT FUNCTION. *J. GEN. VIROL.* **70** 1609-1612

KRAGLER F., MONZER J., SHASH K., XONOCOSTLE-CAZARES B. AND LUCAS W. (1998) CELL-TO-CELL TRANSPORT OF PROTEINS: REQUIREMENT FOR UNFOLDING AND CHARACTERIZATION OF BINDING TO A PUTATIVE PLASMODESMAL RECEPTOR. *THE PLANT JOURNAL* **15** 367-381

KUHN C., FRANCHESCHI V. R., SCHULZ A., LEMOINE R., FROMMER W. B. (1997) MACROMOLECULAR TRAFFICKING INDICATED BY LOCALIZATION AND TURNOVER OF SUCROSE TRANSPORTERS IN ENUCLEATE SIEVE ELEMENTS. *SCIENCE* **275** 1298-1300

L

LAKSHMAN D. K. AND TAVANTZIS S. M. (1992) RNA PROGENY OF AN INFECTIOUS TWO-BASE DELETION CDNA MUTANT OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTV) ACQUIRE TWO NUCLEOTIDES *IN PLANTA*. *VIROLOGY* **187**, 565-572

LAKSHMAN D. K. AND TAVANTZIS S. M. (1993) PRIMARY AND SECONDARY STRUCTURE OF A 360-NUCLEOTIDE ISOLATE OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID. *ARCH. VIROL.* **128**, 319-331

LALL S., FRANCIS-LANG H., FLAMENT A., NORVELL A., SHCUPBACH T. AND ISH-HOROWICZ D. (1999)

SQUID HNRNP PROTEIN PROMOTES APICAL CYTOPLASMIC TRANSPORT AND LOCALIZATION OF *DROSOPHILA* PAIR-RULE TRANSCRIPTS. *CELL* **98**, 171-180

LARTEY R. T, GHOSHROY S. AND CITOVSKY V. (1998) IDENTIFICATION OF AN *ARABIDOPSIS THALIANA* MUTATION (*VSM1*) THAT RESISTS SYSTEMIC MOVEMENT OF TOBAMOVIRUSES. *MOLECULAR PLANT-MICROBE INTERACTIONS* **11**, 706-709

LUCAS W. J., BOUCHE-PILLON S., JACKSON D. P., NGUYEN L., BAKER L., DING B. AND HAKE S. (1995) SELECTIVE TRAFFICKING OF KNOTTED1 HOMEODOMAIN PROTEIN AND ITS MRNA THROUGH PLASMODESMATA. *SCIENCE* **270**, 1980-1983

M

MACLEOD M AND BEACH D H (1987) *EMBO J.* 5 3665–71

MAHAJAN S. K., CHISHOM S. T., WHITHAM S. A. AND CARRINGTON J. C. (1998) IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF A LOCUS (*RTM1*) THAT RESTRICTS LONG-DISTANCE MOVEMENT OF TOBACCO ETCH VIRUS IN *ARABIDOPSIS THALIANA*. *THE PLANT JOURNAL* 14, 177–186

MARTON L., DURAN-VILA N., LIN J. J. AND SEMANCIK J. S. (1982) PROPERTIES OF CELL CULTURES CONTAINING THE CITRUS EXOCORTIS VIROID. *VIROLOGY* 122, 229–238

MATTAJ I. W. AND ENGLMEIER L. (1998) NUCLEOCYTOPLASMIC TRANSPORT : THE SOLUBLE PHASE. *ANNU. REV. BIOCHEM.* 67, 265–306

MERKLE T. AND NAGY F. (1997) NUCLEAR IMPORT OF PROTEINS: PUTATIVE IMPORT FACTORS AND DEVELOPMENT OF *IN VITRO* IMPORT SYSTEMS IN HIGHER PLANTS. *TRENDS IN PLANT SCIENCE* 2(12), 458–464

MORENO S, KLAR A AND NURSE P (1990) GUIDE TO YEAST GENETICS. *METHODS IN ENZYMOLOGY* 194 (ACADEMIC PRESS, EDITORS C. GUTHRIE AND G. FINK)

MUHLBACH H.-P. AND SANGER H. L. (1981) CONTINUOUS REPLICATION OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTV) IN PERMANENT CELL CULTURES OF POTATO AND TOMATO. *BIOSCIENCE REPORTS* 1, 79–87

MUHLBACH H.-P., FAUSTMANN O. AND SANGER H. L. (1983) CONDITIONS FOR OPTIMAL GROWTH OF A PSTVD-INFECTED POTATO CELL SUSPENSION AND DETECTION OF VIROID-COMPLEMENTARY LONGER-THAN-UNIT-LENGTH RNA IN THESE CELLS. *PLANT MOL. BIOL.* 2, 239–247

N

NORVELL A., KELLEY R. L., WEHR K. AND SCHUPBACH T. (1999) SPECIFIC ISOFORMS OF SQUID, A *DROSOPHILA* HNRNP, PERFORM DINSTINCT ROLES IN GURKEN LOCALIZATION DURING OOGENESIS. *GENES AND DEVELOPMENT* 13, 864–876

O

OHNO M., FORNEROD M. AND MATTAJ I. W. (1998) NUCLEOCYTOPLASMIC TRANSPORT: THE LAST 200 NANOMETERS. *CELL* 92, 327–336

Oparka KJ, Roberts AG, Boevink P, Santa Cruz S, Roberts I, Pradel KS, Imlau A, Kotlizky G, Sauer N, Epel B (1999) Simple, but not branched, plasmodesmata allow the nonspecific trafficking of proteins in developing tobacco leaves. *Cell* 97 743–754

OPARKA K. AND TURGEON R. (1999) SIEVE ELEMENTS AND COMPANION CELLS –TRAFFIC CONTROL CENTERS OF THE PHLOEM. *THE PLANT CELL* 11, 739–750

OWENS R. A. AND DIENER T. O. (1982) RNA INTERMEDIATES IN POTATO SPINDLE TUBER VIROID REPLICATION. *PROC. NATL. ACAD. SCI.* 79, 113–117

OWENS R. A., CANDRESSE T. AND DIENER T. O. (1990) CONSTRUCTION OF NOVEL VIROID CHIMERAS CONTAINING PORTIONS OF TOMATO APICAL STUNT AND CITRUS EXOCORTIS VIROIDS. *VIROLOGY* 175, 238–246

OWENS R. A., CHEN W., HU Y. AND HSU Y.-H. (1995) SUPPRESSION OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID REPLICATION AND SYMPTOM EXPRESSION BY MUTATIONS WHICH STABILIZE THE PATHOGENICITY DOMAIN. *VIROLOGY* 208, 554–564

OWENS R. A., STEGER G., HU Y., FELS A., HAMMOND R. W. AND RIESNER D. (1996) RNA STRUCTURAL FEATURES RESPONSIBLE FOR POTATO SPINDLE TUBER VIROID PATHOGENICITY. *VIROLOGY* 222, 144–158

P

Palauqui J.C., Elmayan T., Pollien J.M., Vaucheret H. (1997) Systemic acquired silencing: transgene-specific post-transcriptional silencing is transmitted by grafting from silenced stocks to non-silenced scions. *EMBO J* 16 4738–45

PALUKAITIS P. (1987) POTATO SPINDLE TUBER VIROID: INVESTIGATION OF THE LONG-DISTANCE, INTRA-PLANT TRANSPORT ROUTE. *VIROLOGY* 158, 239–241

PUCHTA H., HEROLD T., VERHOEVEN K., ROENHORST A., RAMM K., SHCMIDT-PUCHTA W. AND SANGER H. L. (1990) A NEW STRAIN OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTVD-N) EXHIBITS MAJOR SEQUENCE DIFFERENCES AS COMPARED TO ALL OTHER PSTVD STRAINS SEQUENCED SO FAR. *PLANT MOLEC. BIOL.* 15, 509–511

Q

QUADT R., ISHIKAWA M., JANDA P. AND AHLQUIST P. (1995) FORMATION OF BROME MOSAIC VIRUS RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE IN YEAST REQUIRES COEXPRESSION OF VIRAL PROTEINS AND VIRAL RNA. *PROC. NATL. ACAD. SCI.* 92, 4892–4896

QU F., HEINRICH C., LOSS P., STEGER G., TIEN P. AND RIESNER D. (1993) MULTIPLE PATHWAYS OF REVERSION IN VIROIDS FOR CONSERVATION OF STRUCTURAL ELEMENTS. *EMBO J.* 12, 2129–2139

R

RACKWITZ H.-R., ROHDE W. AND SANGER H. L. (1981) DNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE II OF PLANT ORIGIN TRANSCRIBES VIROID RNA INTO FULL-LENGTH COPIES. *NATURE* 291, 297–301

RIESNER D., HENCO K., ROKOHL U., KLOTZ G., KLEINSCHMIDT A. K., DOMDEY H., JANK P., GROSS H. J. AND SANGER H. L. (1979) STRUCTURE AND STRUCTURE FORMATION OF VIROIDS. *J. MOL. BIOL.* 133, 85–115

RUNIA W. TH. AND PETERS D. (1980) THE RESPONSE OF PLANT SPECIES USED IN AGRICULTURE AND HORTICULTURE TO VIROID INFECTIONS. *NETH. J. PL. PATH.* 86, 135–146

S

SAAVEDRA C., TUNG K.-S., AMBERG D. C., HOPPER A. K. AND COLE C. N. (1996) REGULATION OF MRNA EXPORT IN RESPONSE TO STRESS IN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*. *GENES AND DEVELOPMENT* 10, 1608–1620

SAEGESSER R., MARTINEZ E., TSAGRIS M. AND TABLER M. (1997) DETECTION AND ISOLATION OF RNA-BINDING PROTEINS BY RNA LIGAND SCREENING OF A CDNA EXPRESSION LIBRARY. *NUCLEIC ACIDS RESEARCH* **25** 3816-22

SALAZAR L. F., HAMMOND R. W., DIENER T. O. AND OWENS R. A. (1988) ANALYSIS OF VIROID REPLICATION FOLLOWING AGROBACTERIUM-MEDIATED INOCULATION OF NON-HOST SPECIES WITH POTATO SPINDLE TUBER VIROID CDNA. *J. GEN. VIROL.* **69**, 879-889

SANGER H. L., KLOTZ G., RIESNER D., GROSS H. J. AND KLEINSCHMIDT (1976) VIROIDS ARE SINGLE-STRANDED COVALENTLY CLOSED CIRCULAR RNA MOLECULES EXISTING AS HIGHLY BASE-PAIRED ROD-LIKE STRUCTURES. *PROC. NATL. ACAD. SCI.* **73**, 3852-3856

SANGER H. L. (1982) BIOLOGY, STRUCTURE, FUNCTIONS AND POSSIBLE ORIGINS OF VIROIDS. IN: PARTHIER B. AND BOULTER D. (ED) *ENCYCLOPEDIA OF PLANT PHYSIOLOGY NEW SERIES*, VOLUME **14B**, 368-454. SPRINGER-VERLAG.

SANGER H. L. (1984) MINIMAL INFECTIOUS AGENTS: THE VIROIDS. IN: MAHY B. W. J. AND PATTISON J. R. (ED) *THE MICROBE 1984: PART I VIRUSES*, PP. 281-334. CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS.

SANO T., CANDRESSE T., HAMMOND R. W., DIENER T. O. AND OWENS R. A. (1992) IDENTIFICATION OF MULTIPLE STRUCTURAL DOMAINS REGULATING VIROID PATHOGENICITY. *PROC. NATL. ACAD. SCI.* **89**, 10104-10108

SANO T. AND ISHIGURO A. (1998) VIABILITY AND PATHOGENICITY OF INTER-SUBGROUP VIROID CHIMERAS SUGGEST POSSIBLE INVOLVEMENT OF THE TERMINAL RIGHT REGION IN REPLICATION AND RECOMBINATION. *VIROLOGY* **240** 238-44.

SANTA CRUZ S. (1999) PERSPECTIVE: PHLOEM TRANSPORT OF VIRUSES AND MACROMOLECULES - WHAT GOES IN MUST GO OUT. *TRENDS IN MICROBIOLOGY* **7**, 237-241

Schiebel W, Pelissier T, Riedel L, Thalmeir S, Schiebel R, Kempe D, Lottspeich F, Sanger HL, Wassenegger M (1998) Isolation of an RNA-directed RNA polymerase-specific cDNA clone from tomato. *Plant Cell* **10** 2087-2101

SCHINDLER I.-M. AND MUHLBACH H.-P. (1992) INVOLVEMENT OF NUCLEAR DNA-DEPENDENT RNA POLYMERASES IN POTATO SPINDLE TUBER VIROID REPLICATION: A REEVALUATION. *PLANT SCIENCE* **84**, 221-229

SCHNOLZER M., HAAS B., RAMM K., HOFMANN H. AND SANGER H. L. (1985) CORRELATION BETWEEN STRUCTURE AND PATHOGENICITY OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTV). *EMBOJ.* **4**, 2181-2190

SCHUMACHER J., RANGLES J. W. AND RIESNER D. (1983) A TWO DIMENSIONAL ELECTROPHORETIC TECHNIQUE FOR THE DETECTION OF CIRCULAR VIROIDS AND VIRUSOIDS. *ANAL. BIOCHEM.* **135**, 288-295

SCHUMACHER J., SANGER H. L. AND RIESNER D. (1983) SUBCELLULAR LOCALIZATION OF VIROIDS IN HIGHLY PURIFIED NUCLEI FROM TOMATO LEAF TISSUE. *EMBOJ.* **2**, 1549-1555

SEMANCIK J. S., SZYCHOWSKI J. A., RAKOWSKI A. G. AND SYMONS R. H. (1993) ISOLATES OF CITRUS EXOCORTIS VIROID RECOVERED BY HOST AND TISSUE SELECTION. *J. GEN. VIROL.* **74**, 2427-2436

SENGUPTA DJ, ZHANG B, KRAEMER B, POCHART P, FIELDS S AND WICKENS M (1996) A THREE-HYBRID SYSTEM TO DETECT RNA-PROTEIN INTERACTIONS *IN VIVO*. *PROC. NATL. ACAD. SCI.* **93** 8496-8501

SINGH R. P. (1973) EXPERIMENTAL HOST RANGE OF THE POTATO SPINDLE TUBER "VIRUS". *AMERICAN POTATO JOURNAL* **50**, 111-123

SPIEKER R. L. (1996) *IN VITRO*-GENERATED "INVERSE" CHIMERIC *COLEUS BLUMEI* VIROIDS EVOLVE *IN VIVO* INTO INFECTIOUS RNA REPLICONS. *J. GEN. VIR.* **77**, 2839-2846

SPIESMACHER E., MUHLBACH H.-P., SCHNOLZER M., HAAS B. AND SANGER H. L. (1983) OLIGOMERIC FORMS OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTV) AND OF ITS COMPLEMENTARY RNA ARE PRESENT IN NUCLEI ISOLATED FROM VIROID-INFECTED POTATO CELLS. *BIOSCIENCE REPORTS* **3**, 767-774

STASYS R. A., DRY I. B. AND REZAIAN M. A. (1995) THE TERMINI OF A NEW CITRUS VIROID CONTAIN DUPLICATIONS OF THE CENTRAL CONSERVED REGIONS FROM TWO VIROID GROUPS. *FEBS LETTERS* **358**, 182-184

STEGER G., BAUMSTARK T., MOERCHEN M., TABLER M., TSAGRIS M., SANGER H. L. AND RIESNER D. (1992) STRUCTURAL REQUIREMENTS FOR VIROID PROCESSING BY RNASE T1. *J. MOL. BIOL.* **227**, 719-737

STOCKER S., GUITTON M.-C., BARTH A. AND MUHLBACH H.-P. (1993) PHOTOSYNTHETICALLY ACTIVE SUSPENSION CULTURES OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID INFECTED TOMATO CELLS AS TOOLS FOR STUDYING VIROID - HOST CELL INTERACTION. *PLANT CELL REPORTS* **12**, 597-602

SULZINSKI M. A. AND ZEITLIN M. (1982) TOBACCO MOSAIC VIRUS REPLICATION IN RESISTANT AND SUSCEPTIBLE PLANTS: IN SOME RESISTANT SPECIES VIRUS IS CONFINED TO A SMALL NUMBER OF INITIALLY INFECTED CELLS. *VIROLOGY* **121**, 12-19

T

TABLER M. AND SANGER H. L. (1984) CLONED SINGLE- AND DOUBLE STRANDED DNA COPIES OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTV) RNA AND CO-INOCULATED SUBGENOMIC DNA FRAGMENTS ARE INFECTIOUS. *EMBO J.* **3**, 3055-3062

TABLER M. AND SANGER H. L. (1985) INFECTIVITY STUDIES ON DIFFERENT POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTV) RNAs SYNTHESIZED *IN VITRO* WITH THE SP6 TRANSCRIPTION SYSTEM. *EMBO J.* **4**, 2191-2199

TABLER M., GUNTER I., KERN R. AND SANGER H. L. (1989) A MICROSCALE PROCEDURE FOR ISOLATING AND SEQUENCING THE VIROID RNA PRESENT IN ONE GRAM OF INFECTED LEAF TISSUE. *J. VIROL. METH.* **23**, 111-126

TABLER M. AND TSAGRIS M. (1990) VIROID REPLICATION MECHANISMS. IN: FRASER R. S. S. (ED) RECOGNITION AND RESPONSE IN PLANT-VIRUS INTERACTIONS, *NATO ASI SERIES*, VOL. H **41**, PP. 185-205. SPRINGER-VERLAG.

TABLER M., TZORTZAKAKI S. AND TSAGRIS M. (1992) PROCESSING OF LINEAR LONGER-THAN-UNIT-LENGTH POTATO SPINDLE TUBER VIROID RNAs INTO INFECTIOUS MONOMERIC CIRCULAR MOLECULES BY A G-SPECIFIC ENDORIBONUCLEASE. *VIROLOGY* **190**, 746-753

TSAGRIS M., TABLER M. AND SANGER H. L. (1987A) OLIGOMERIC POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTV) RNA DOES NOT PROCESS AUTOCATALYTICALLY UNDER CONDITIONS WHERE OTHER RNAS DO. *VIROLOGY* **157**, 227–231.

TSAGRIS M., TABLER M., MUHLBACH H.-P. AND SANGER H. L. (1987B) LINEAR OLIGOMERIC POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTV) RNAS ARE ACCURATELY PROCESSED *IN VITRO* TO THE MONOMERIC CIRCULAR VIROID PROPER WHEN INCUBATED WITH A NUCLEAR EXTRACT FROM HEALTHY POTATO CELLS. *EMBO J.* **6**, 2173–2183

TSAGRIS M., TABLER M. AND SANGER H. L. (1991) RIBONUCLEASE T1 GENERATES CIRCULAR RNA MOLECULES FROM VIROID-SPECIFIC RNA TRANSCRIPTS BY CLEAVAGE AND INTRAMOLECULAR LIGATION. *NUCLEIC ACIDS RES.* **19**, 1605–1611

V

VISVADER J. E. AND SYMONS R. H. (1983) COMPARATIVE SEQUENCE AND STRUCTURE OF DIFFERENT ISOLATES OF CITRUS EXOCORTIS VIROID. *VIROLOGY* **130**, 232–237

VISVADER J. E. AND SYMONS R. H. (1985) ELEVEN NEW SEQUENCE VARIANTS OF CITRUS EXOCORTIS VIROID AND THE CORRELATION OF SEQUENCE WITH PATHOGENICITY. *NUCLEIC ACIDS RES.* **13**, 2907–2920

VISVADER J. E. AND SYMONS R. H. (1986) REPLICATION OF *IN VITRO* CONSTRUCTED VIROID MUTANTS: LOCATION OF THE PATHOGENICITY-MODULATING DOMAIN OF CITRUS EXOCORTIS VIROID. *EMBO J.* **5**, 2051–2055

W

WASSENEGGER M., HEIMES S., RIEDEL L. AND SANGER H. L. (1994) RNA-DIRECTED DE NOVO METHYLATION OF GENOMIC SEQUENCES IN PLANTS. *CELL* **76**, 567–576

WASSENEGGER M., HEIMES S. AND SANGER H. L. (1994) AN INFECTIOUS VIROID RNA REPLICON EVOLVED FROM AN *IN VITRO*-GENERATED NON-INFECTIOUS VIROID DELETION MUTANT VIA A COMPLEMENTARY DELETION *IN VIVO*. *EMBO J.* **13**, 6172–6177

WASSENEGGER M. AND PELISSIER T. (1998) A MODEL FOR RNA-MEDIATED GENE SILENCING IN HIGHER PLANTS. *PLANT MOLECULAR BIOLOGY* **37** 349–362

WASSENEGGER M. AND PELISSIER T. (1999) SIGNALLING IN GENE SILENCING. *TRENDS IN PLANT SCIENCES* **4** 207–209

WASSENEGGER M., SPIEKER R. L., THALMEIR S., GAST F.-U., RIEDEL L. AND SANGER H. (1996) A SINGLE NUCLEOTIDE SUBSTITUTION CONVERTS POTATO SPINDLE TUBER VIROID (PSTVD) FROM A NONINFECTIOUS TO AN INFECTIOUS RNA FOR *NICOTIANA TABACUM*. *VIROLOGY* **226**, 191–197

WICKNER R. B. (1989) YEAST VIROLOGY. *FASEB J.* **3**, 2257–2265

WICKNER R. B. (1992) DOUBLE-STRANDED AND SINGLE-STRANDED RNA VIRUSES OF *S. CEREVISIAE*. *ANNU. REV. MICROBIOL.* **46**, 347–375.

WICKNER R. B. (1996) DOUBLE-STRANDED RNA VIRUSES OF *S. CEREVISIAE*. *MICROBIOL. REV.* **60**, 250–265

WHITTAKER G. R. AND HELENIUS A. (1998) NUCLEAR IMPORT AND EXPORT OF VIRUSES AND VIRUS GENOMES. *VIROLOGY* **246**, 1–23

WOO Y.-M., ITAYA A., OWENS R., TANG L., HAMMOND R. W., CHOU H.-C., LAI M. M. C. AND DING B. (1999) CHARACTERIZATION OF NUCLEAR IMPORT OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID RNA IN PERMEALIZED PROTOPLASTS. *THE PLANT JOURNAL* 17(6), 627-635

X

XONOCOSTLE-CAZARES B., XIANG Y., RUIZ-MEDRANO R., WANG H.-L., MONZER J., YOO B.-C., MCFARLAND K. C., FRANCHESCHI V. R., LUCAS W. J. (1999) PLANT PARALOG TO VIRAL MOVEMENT PROTEIN THAT POTENTIATES TRANSPORT OF MRNA INTO THE PHLOEM. *SCIENCE* 283, 94-98

Z

ZELCER A., VAN ADELSBERG J., LEONARD D. A. AND ZAITLIN M. (1981) PLANT CELL SUSPENSION CULTURES SUSTAIN LONG-TERM REPLICATION OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID. *VIROLOGY* 109, 314-322

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑ

Η ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΥΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΒΛΕΨΗ ΤΗΣ ΕΠΙΚΟΥΡΟΥ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ ΔΡ. ΜΙΝΑ ΤΣΑΓΡΗ. Η ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΜΟΥ ΣΤΙΣ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΕΣ ΤΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ ΞΕΚΙΝΗΣΕ ΤΟΝ ΓΕΝΑΡΗ ΤΟΥ 1995. ΣΤΟΝ ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΗΝΑ ΤΗΣ ΠΑΡΑΜΟΝΗΣ ΜΟΥ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ Ο ΔΡ. ΜΑΡΤΙΝ ΤΑΜΠΛΕΡ ΜΕ ΠΑΡΟΤΡΥΝΕ ΝΑ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΩ ΤΙΣ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΕΣ ΜΟΥ ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΕΣ ΣΤΗΝ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ. Η ΑΠΟΦΑΣΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΣΕ ΕΚΕΙΝΗ ΤΗΝ ΧΡΟΝΙΚΗ ΣΤΙΓΜΗ ΥΠΗΡΞΕ ΚΑΘΟΡΙΣΤΙΚΗ ΚΑΙ ΤΟΥ ΟΦΕΙΛΩ ΒΑΘΕΙΑ ΕΥΓΝΩΜΟΣΥΝΗ.

Πέραν του επιστημονικού αποτελεσματος, στοχος της διατριβης ηταν η αναπτυξη των διαφορων παραμετρων που διαμορφωνουν την ερευνητικη ικανοτητα και η επιγνωση των δυνατοτητων και των περιορισμων της. Ευχαριστω την κ. Τσαγρη που σεβαστηκε την αναγκη της αναπτυξης πρωτοβουλιας και της διαμορφωσης επιστημονικων επιλογων. Μου επετρεψε να αποφασιζω για τα πειραματα μου και να αφιερωνω χρονο στην καλλιεργεια και των εκτος διατριβης επιστημονικων ενδιαφεροντων.

ΜΙΑ ΑΘΕΑΤΗ ΣΤΟΝ ΑΝΑΓΝΩΣΤΗ ΣΥΝΕΙΣΦΟΡΑ ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ ΝΑ ΚΑΘΟΡΙΣΕΙ ΘΕΤΙΚΑ ΤΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΣΥΓΓΡΑΦΗ ΜΙΑΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ. ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΤΟΤΕ ΜΙΑ ΕΥΝΟΙΚΗ ΓΙΑ ΤΟΝ/ΤΗΝ ΔΙΔΑΚΤΟΡΑ ΑΝΑΝΤΙΣΤΟΙΧΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ/ΤΗΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΧΟΜΕΝΟΥ, ΚΑΘΩΣ ΑΥΤΟΣ/ΑΥΤΗ ΚΡΙΝΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΟΡΑΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (ΒΛ. ΤΟ ΑΝΕΚΔΟΤΟ ΜΕ ΤΟΝ ΛΑΓΟ ΚΑΙ ΤΟ ΛΙΟΝΤΑΡΙ). ΣΕ ΑΛΛΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ, ΤΑ ΕΚΤΟΣ ΚΕΙΜΕΝΟΥ, ΑΦΑΝΗ ΣΥΜΒΑΝΤΑ ΣΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΕΝΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ, ΕΙΝΑΙ ΔΥΝΑΤΟΝ, ΕΞ ΑΜΕΛΕΙΑΣ Η ΣΚΟΠΙΜΩΣ, ΝΑ ΚΑΤΑΣΤΕΙΛΟΥΝ ΤΗΝ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΑ ΚΑΙ ΝΑ ΠΝΙΞΟΥΝ ΤΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΚΙΝΗΤΡΑ. Η ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗΣ ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΑΣ ΑΝΑΡΡΩΣΗΣ ΑΠΟ ΜΙΑ ΤΕΤΟΙΑ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ. ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ ΤΟΥΣ ΠΡΟΕΔΡΟΥΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΘ. ΚΚ. ΤΣΙΜΕΝΙΔΗ ΚΑΙ ΟΙΚΟΝΟΜΟΠΟΥΛΟ ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ ΤΙΣ ΕΠΙΤΡΟΠΕΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΑΡΜΟΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΤΕΛΕΥΤΑΙΩΝ ΠΕΝΤΕ ΕΤΩΝ, ΠΟΥ ΤΟ ΕΠΕΤΡΕΨΑΝ, ΕΞΙΣΟΡΡΟΠΩΝΤΑΣ ΑΥΣΤΗΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΟΗΣΗ, ΚΑΘΩΣ Η ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΜΟΥ ΣΤΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΠΑΡΑΒΙΑΣΕ ΤΑ ΛΟΓΙΚΑ ΟΡΙΑ.

ΑΠΟ ΤΗΝ ΛΟΓΙΚΗ ΠΑΡΕΚΛΙΝΑΝ ΚΑΙ ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΕΜΠΟΔΙΑ ΜΕ ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΠΙΒΑΡΥΝΘΗΚΑΝ ΟΙ ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΑΤΡΙΒΗ. ΤΟ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΜΙΑΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΤΟ ΠΕΔΙΟ ΠΑΝΩ ΣΤΟ ΟΠΟΙΟ ΕΞΑΣΚΟΥΝΤΑΙ ΟΙ ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ/ΤΗΣ ΥΠΟΨΗΦΙΟΥ ΔΙΔΑΚΤΟΡΑ. Η ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΔΥΣΚΟΛΙΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΕΝΑ ΑΠΟ ΤΑ ΠΛΕΟΝ ΟΥΣΙΑΣΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ. Η ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΑ ΑΥΤΗ ΕΙΝΑΙ ΣΥΝΗΘΩΣ ΑΡΚΕΤΑ ΕΠΙΠΟΝΗ, ΩΣΤΕ Η ΕΠΙΒΑΡΥΝΣΗ ΤΗΣ ΜΕ ΕΞΩΓΕΝΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΔΥΝΑΜΙΑ ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΦΥΣΗΣ ΕΙΝΑΙ ΑΠΟ ΠΕΡΙΤΤΗ ΕΩΣ ΕΠΙΖΗΜΙΑ. ΕΙΜΑΙ ΒΑΘΥΤΑ ΕΥΓΝΩΜΩΝ ΣΤΗΝ Κ. ΤΣΑΓΡΗ ΣΤΟΝ Κ. ΤΑΜΠΛΕΡ ΚΑΙ ΣΕ ΟΣΟΥΣ ΒΟΗΘΗΣΑΝ ΝΑ ΑΚΥΡΩΘΟΥΝ ΚΑΠΟΙΕΣ ΑΠΟ ΤΙΣ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΩΝ ΚΑΙ «ΛΟΓΟΤΕΧΝΙΚΩΝ» ΣΦΑΛΜΑΤΩΝ ΤΕΤΟΙΑΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ. ΗΤΑΝ ΕΝΑ

ΕΝΘΑΡΥΝΤΙΚΟ ΜΥΝΗΜΑ ΠΩΣ Η ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΕΠΙΤΥΧΙΑ ΚΑΙ Η ΚΑΤΟΧΗ ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΗΣ ΘΕΣΗΣ ΔΕΝ ΑΥΤΕΠΑΓΓΕΛΕΤΑΙ ΤΟ ΔΙΚΑΙΩΜΑ ΕΠΙΒΟΛΗΣ ΤΗΣ ΟΠΟΙΑΣΔΗΠΟΤΕ ΘΕΛΗΣΗΣ. ΑΝΤΙΘΕΤΑ ΔΗΜΙΟΥΡΓΕΙ ΤΗΝ ΥΠΟΧΡΕΩΣΗ ΤΗΣ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΚΗΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΤΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗΣ ΕΠΙΡΡΟΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΔΙΚΑΙΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΤΗΣ ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΗΣ ΕΞΟΥΣΙΑΣ.

ΚΡΑΔΑΣΜΟΙ, ΚΑΙ ΠΙΕΣΕΙΣ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΠΛΕΥΡΕΣ, ΑΠΟΡΡΟΦΗΘΗΚΑΝ ΑΠΟ ΤΑ ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΑΝ. ΚΑΘ. ΔΕΣΠΟΙΝΑ ΑΛΕΞΑΝΔΡΑΚΗ ΚΑΙ ΚΑΘ. ΧΡΗΣΤΟ ΔΕΛΙΔΑΚΗ ΕΞΑΝΤΛΩΝΤΑΣ ΙΣΩΣ ΤΗΝ ΕΠΙΜΟΝΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΥΠΟΜΟΝΗ ΤΟΥΣ. Η ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΑΥΤΗ ΑΦΙΕΡΩΝΕΤΑΙ ΣΕ ΑΥΤΟΥΣ.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ ΓΙΑ ΤΙΣ ΔΙΟΡΘΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΓΙΑ ΤΑ ΣΧΟΛΙΑ ΤΟΥΣ ΤΑ ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΚΑΘ. ΧΡΗΣΤΟ ΔΕΛΙΔΑΚΗ, ΚΑΘ. ΕΛΕΥΘΕΡΙΟ ΖΟΥΡΟ, ΑΝ. ΚΑΘ. ΜΙΧΑΛΗ ΚΟΚΚΙΝΙΔΗ, ΚΑΘ. ΒΑΣΙΛΗ ΜΠΟΥΡΙΩΤΗ, ΚΑΘ. ΝΙΚΟ ΠΑΝΟΠΟΥΛΟ, ΑΝ. ΚΑΘ. ΓΙΩΡΓΟ ΧΑΛΕΠΑΚΗ.

Η ΤΕΧΝΙΚΗ ΜΟΥ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΣΤΗ ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΟΜΥΚΗΤΑ ΚΑΙ Η ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΟΙΝΩΝΙΚΗ ΜΟΥ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΔΕΝ ΕΧΟΥΝ ΞΕΠΕΡΑΣΕΙ ΑΚΟΜΑ ΤΟ ΛΑΜΠΡΟ ΥΠΟΔΕΙΓΜΑ ΠΟΥ ΓΙΑ ΠΟΛΛΑ ΧΡΟΝΙΑ ΤΙΣ ΕΙΧΕ ΚΑΘΟΔΗΓΗΣΕΙ.

ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΠΑΡΞΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΥΒΡΙΔΙΩΝ ΤΟΥ WICKENS ΕΙΧΑΜΕ ΕΝΗΜΕΡΩΘΕΙ ΑΠΟ ΤΟΝ ΝΙΚΟ ΚΥΡΠΙΔΗ ΠΡΟΤΟΥ ΑΚΟΜΗ ΔΗΜΟΣΙΕΥΤΕΙ. ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΕΠΙΤΥΧΩΣ ΑΦΟΥ ΑΞΙΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΕΝΑ ΣΧΟΛΙΟ ΤΗΣ ΑΛΕΞΑΝΔΡΑΣ ΒΟΥΤΣΙΝΑ. ΤΟ ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΗΤΑΝ ΜΙΑ ΙΔΕΑ ΤΟΥ ΔΡ. ΜΑΡΤΙΝ ΤΑΜΠΛΕΡ.

Ο ΓΙΑΝΝΗΣ ΠΑΠΑΕΥΘΥΜΙΟΥ ΣΥΝΕΒΑΛΕ ΣΤΙΣ ΠΛΑΣΜΙΔΙΑΚΕΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΕΣ ΤΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ 13.5 ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΟΜΟΝΟΙΑ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΕΝΩ ΑΝΕΒΑΖΕ ΞΕΚΑΡΔΙΣΤΙΚΑ ΤΑ ΝΤΕΣΙΜΠΕΛ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ.

Ο ΚΡΙΤΩΝ ΚΑΛΑΝΤΙΔΗΣ ΗΤΑΝ Η ΦΩΝΗ ΤΗΣ ΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΔΙΚΑΙΟΥ. Η ΣΕΡΓΙΑ ΤΖΩΡΤΖΑΚΑΚΗ ΚΑΙ Η ΜΑΙΡΗ ΠΡΟΒΙΔΑΚΗ Η ΕΜΠΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΕΥ ΖΕΙΝ.

Αξεχαστοι θα μείνουν οι Ροδολφος Ζεγγεζερ, Ηρω Κοντοδημου, Εμίλιο Μαρτινεζ, Γιουτα Μοσμπαουερ, Αλεξανδρα Μπουτλα, Μικελα Ντεντι, Μαρτιν Ταμπλερ, Μινα Τσαγρη, Κριστιαν Χαμαν, για τα τοσο καλοπροαιρετα και εξαιρετικα εμπειριστατωμενα, δημιουργικα τους σχολια.

Η ΤΑΛΑΙΠΩΡΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΖΗΤΗΣΗΣ ΓΥΑΛΙΚΩΝ ΑΝΑΚΟΥΦΙΣΤΗΚΕ ΑΠΟ ΤΗΝ ΣΟΝΙΑ. Η ΚΑΤΕΡΙΝΑ ΜΑΓΕΙΡΕΥΕ ΓΙΑ ΔΙΣΕΚΑΤΟΜΜΥΡΙΑ ΜΕΛΛΟΘΑΝΑΤΟΥΣ. ΣΤΟ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΟ ΤΟΥΣ ΠΕΡΑΣΜΑ ΑΠΟ ΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ, Η ΑΘΗΝΑ, ΚΑΙ ΑΡΓΟΤΕΡΑ Η ΕΙΡΗΝΗ ΚΑΙ Η ΝΙΚΗ, ΑΦΗΝΑΝ ΚΑΘΑΡΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΧΑΜΟΓΕΛΟ.

Η ΠΡΟΣΠΑΘΕΙΑ ΘΑ ΗΤΑΝ ΔΥΣΒΑΣΤΑΧΤΗ ΔΙΧΩΣ ΣΥΜΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ, ΚΑΙ ΔΙΧΩΣ ΤΙΣ ΟΜΟΡΦΕΣ ΣΤΙΓΜΕΣ ΜΕ ΤΟΥΣ ΦΙΛΟΥΣ ΣΤΟ ΛΑΜΠΕΡΟ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΟ, ΓΕΥΣΤΙΚΟ ΚΑΙ ΜΟΥΣΙΚΟ ΤΟΠΙΟ ΤΗΣ ΚΡΗΤΗΣ. ΟΙ ΚΟΝΤΥΛΙΕΣ ΤΟΥ ΑΒΒΗΣΙΝΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΨΑΡΟΓΙΩΡΓΗ ΧΑΛΑΡΩΝΑΝ ΤΟΝ ΑΥΣΤΗΡΟ ΒΗΜΑΤΙΣΜΟ ΤΟΥ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΟΡΘΟΛΟΓΙΣΜΟΥ. ΑΓΧΗ ΚΑΙ ΑΓΩΝΙΕΣ ΞΕΧΑΣΤΗΚΑΝ ΣΤΟ ΦΕΓΓΑΡΟΦΩΤΟ ΜΕ ΤΟ ΚΡΑΣΙ ΤΟΥ ΚΩΤΣΑΡΕΛΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΣΙΚΟΥΔΙΑ ΤΟΥ ΤΑΡΖΑΝ, ΚΑΙ Η ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ ΚΟΥΡΑΣΗ ΧΙΛΙΑΔΩΝ ΒΗΜΑΤΩΝ ΣΤΟΥΣ ΔΙΑΔΡΟΜΟΥΣ ΒΟΥΛΙΑΞΕ ΤΑ ΣΑΒΒΑΤΟΚΥΡΙΑΚΑ ΣΤΗΝ ΗΛΙΟΛΟΥΣΤΗ ΑΠΕΡΑΝΤΟΣΥΝΗ ΤΟΥ ΛΥΒΙΚΟΥ ΠΕΛΑΓΟΥΣ.