**Úloha z restrikčního štěpení**

**Zadání**

Jedna jednotka restrikční endonukleázy *Bam*H I je množství enzymu, které rozštěpí 1μg DNA fága λ za optimálních reakčních podmínek při 37°C za 1 hodinu. **Na molekule DNA fága λ je celkem 5 štěpných míst pro restriktázu *Bam*HI**. Chceme-li linearizovat plasmid, který obsahuje jediné restrikční místo pro tuto restriktázu, jaké podmínky štěpení použijeme? Máme linearizovat 1010 molekul plasmidu.

**Řešení**

1. Předpokládejme, že budeme štěpit 1 hodinu. Musíme tedy spočítat množství jednotek restriktázy.
2. Předpokládejme, že použijeme 1 jednotku restriktázy. Musíme tedy spočítat dobu štěpení

Velikost DNA fága λ = 48 502 bp, molekulová hmotnost 1 bp = 650

*1) Spočítáme počet molekul fága λ, které enzym Bam*H I *rozštěpí*

6,023 x 1023 molekul DNA fága *λ* ….. má hmotnost ….. 650 x 48 502 g

X molekul DNA fága *λ* ….. má hmotnost ….. 1 x 10-6 g

-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------

X = 6,023 x 1023 x 1 x 10-6/ 650 x 48 502 = *1,91 x 1010 molekul*

**Ad a)**

1 jednotka restriktázy *Bam*H I ….. rozštěpí za 1 hodinu ….. 1,91 x 1010 molekul

X jednotek restriktázy *Bam*H I ….. rozštěpí za 1 hodinu ….. 1,00 x 1010 molekul

-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------

X = 1,00/1,91 x 1010 x 1 jednotek = 0,52 jednotek

**Chceme-li tedy štěpit 1 hodinu, použijeme asi 0,5 jednotky restriktázy *Bam*H I (pro plasmid 5x méně)**

**Ad b)**

za 1 hodinu ….. rozštěpí 1 jednotka restriktázy *Bam*H I ….. 1,91 x 1010 molekul

za X hodin ….. rozštěpí 1 jednotka restriktázy *Bam*H I ….. 1,00 x 1010 molekul

-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------

X = 1,00/1,91 x 1010 x 1 hodin = 0,52 hodin

**Chceme-li tedy štěpit 1 jednotkou restriktázy *Bam*H I, pak budeme štěpit asi 30 minut (pro plasmid 5x rychleji)**