

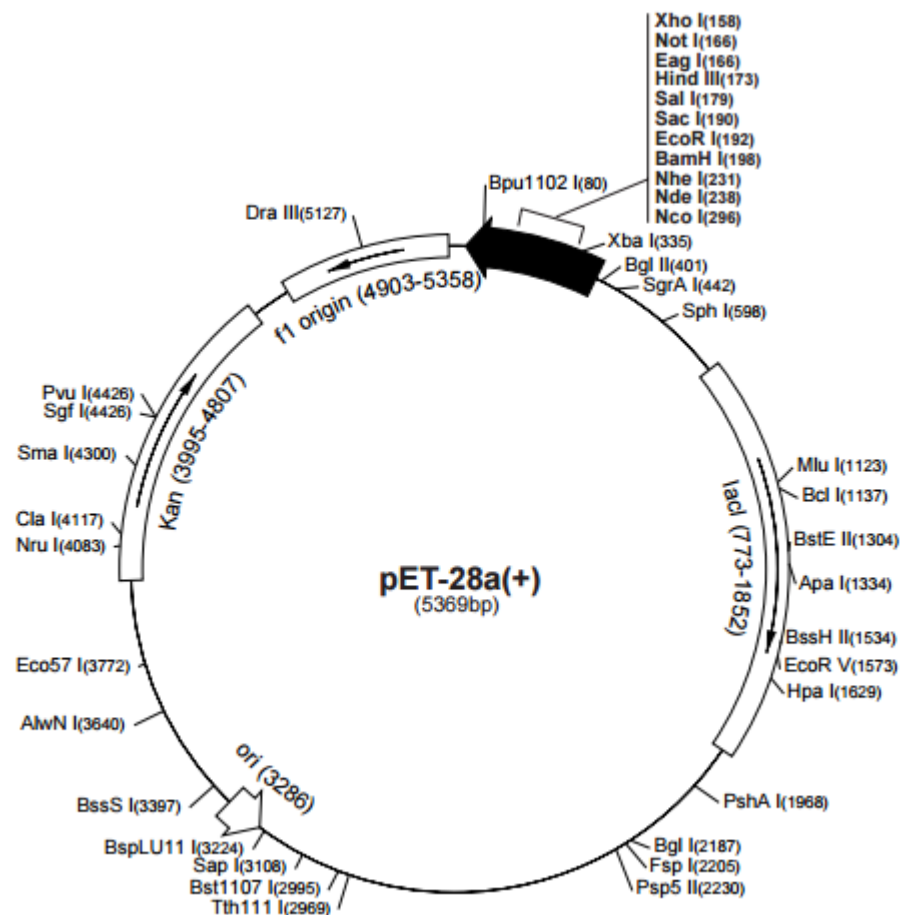
>EF136587.1 Putative holin

TACTGTTATATTATTGTTAGAAATAAATATAATAGAAAGGTCGGTTTTTTAATGCGCTAATGAACTAAACAACCTAAAGTTGTTGGAGGAATAAACCTTAGCACAAGAATAAGAGCAAACATTTTG
 GGTAGCAATTATATCAGCAGTAGCATTATTTGCTAACCAAATTATAGGTGCTTTTCGGTTTACTACTCAGCTCAAATGAGCAAGGTGTAATATTTGTAGGTTCTATACTAACACTATTAGCAGGTT
 TAGGTATTATTGTTGATAATAACTAAAGGTCTTAAAGATAGTGATATTGTTCAAACAGACTATCTTAAACCTCGTGATAGTAAAGACCCTAATGAATTCGTTCAATGGCAAGCAAATGCAAATAAC
 ACTAGTACTTTTGGATAGACAGCTACGAAAACAATGCAGAACCTGACACAGATGATAGTGATGAAGTACCTGCTATTGAAGATGAAATTTGATGGTGGTTCAGCACCTTCTCAAGATGAAGAAGATAC
 CGAGGAACATGGTAAAGTATTTGCAGAAGTTAAGTAAATGGCTACAGATGA

ATG - iniciačný kodón

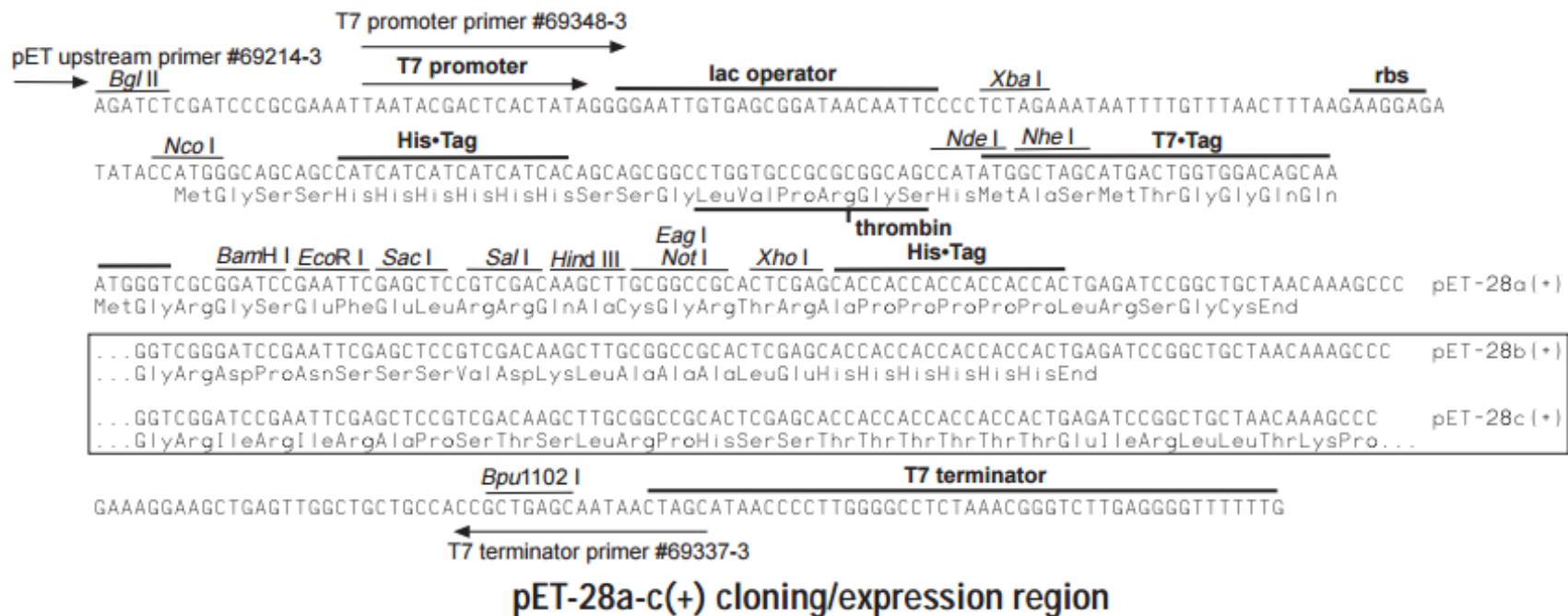
TAA - stop kodón

Name	Sequence	Site Length	Overhang	Frequency	Cut Positions
ScaI	AGTACT	6	blunt	1	390
SspI	AATATT	6	blunt	1	222
XmnI	GAANNNTTC	6	blunt	1	356
ApoI	RAATTY	6	five_prime	1	352
BccI	CCATC	5	five_prime	1	469
Bpu10I	CCTNAGC	6	five_prime	1	97
EcoP15I	CAGCAG	6	five_prime	1	173
EcoRI	GAATTC	6	five_prime	1	352
SmlI	CTYRAG	6	five_prime	1	494
SpeI	ACTAGT	6	five_prime	1	385
TatI	WGTA CW	6	five_prime	1	388
AlwNI	CAGNNNCTG	6	three_prime	1	427
BseMII	CTCAG	5	three_prime	1	209
BseRI	GAGGAG	6	three_prime	1	553
MmeI	TCCRAC	6	three_prime	1	63
BspMI	ACCTGC	6	five_prime	2	241, 462
AlfI	GCANNNNNNTGC	6	three_prime	2	355, 389
BcgI	CGANNNNNNTGC	6	three_prime	2	400, 434
AgsI	TTSAA	5	three_prime	3	310, 361, 463
MboII	GAAGA	5	three_prime	3	475, 514, 517
TsoI	TARCCA	6	three_prime	3	43, 178, 546
BdaI	TGANNNNNNTCA	6	three_prime	4	289, 323, 340, 374
TspDTI	ATGAA	5	three_prime	5	74, 365, 461, 482, 515



pET28a: T7 polymeráza začína transkripciu na pozícii 369 → 0, terminátor je na pozícii 26-72

In silico restričná analýza génu pre predpokladaný holín s okolitými sekvenciami



Detail sekvencie multiple cloning site s vyznačenými štiepnými miestami, a funkčnými oblasťami.

Úloha: Navrhnete primery vhodné na klonovanie predpokladaného holínu do zadaného expresného vektora pET28a, tak aby sa na jednom **alebo** druhom konci proteínu nachádzal His-tag uľahčujúci purifikáciu a aby bolo možné ho v tomto vektore exprimovať.

Sekvencie primerov vhodných na klonovanie:

Hol_RE1_FW: 5'- -3'

Hol_RE2_RV: 5'- -3'