

Úloha z restrikčního štěpení

Zadání

Jedna jednotka restrikční endonukleázy *BamH I* je množství enzymu, které rozštěpí 1 μg 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 *BamH I*.** Chceme-li linearizovat plasmid, který obsahuje jediné restrikční místo pro tuto restriktázu, jaké podmínky štěpení použijeme? Máme linearizovat 10^{10} molekul plasmidu.

Řešení

- Předpokládejme, že budeme štěpit 1 hodinu. Musíme tedy spočítat množství jednotek restriktázy.
- 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 *BamH I* rozštěpí

$6,023 \times 10^{23}$ molekul DNA fága λ	má hmotnost	$650 \times 48\,502$ g
X molekul DNA fága λ	má hmotnost	1×10^{-6} g

$$X = 6,023 \times 10^{23} \times 1 \times 10^{-6} / 650 \times 48\,502 = 1,91 \times 10^{10} \text{ molekul}$$

Ad a)

1 jednotka restriktázy <i>BamH I</i>	rozštěpí za 1 hodinu	$1,91 \times 10^{10}$ molekul
X jednotek restriktázy <i>BamH I</i>	rozštěpí za 1 hodinu	$1,00 \times 10^{10}$ molekul

$$X = 1,00 / 1,91 \times 10^{10} \times 1 \text{ jednotek} = 0,52 \text{ jednotek}$$

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

Ad b)

za 1 hodinu	rozštěpí 1 jednotka restriktázy <i>BamH I</i>	$1,91 \times 10^{10}$ molekul
za X hodin	rozštěpí 1 jednotka restriktázy <i>BamH I</i>	$1,00 \times 10^{10}$ molekul

$$X = 1,00 / 1,91 \times 10^{10} \times 1 \text{ hodin} = 0,52 \text{ hodin}$$

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