

MAPOVÁNÍ DNA GENOMU POMOCÍ RESTRIKČNÍCH ENDONUKLEÁZ

Restrikční mapa = znázorňuje počet restrikčních fragmentů DNA a jejich uspořádání v genomu

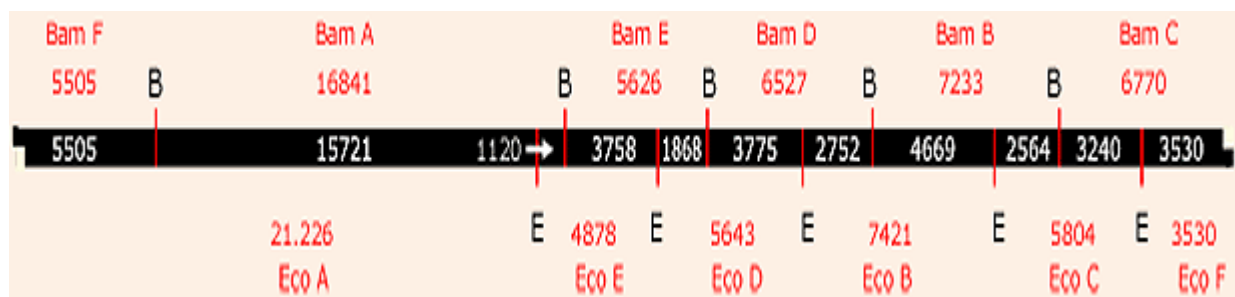
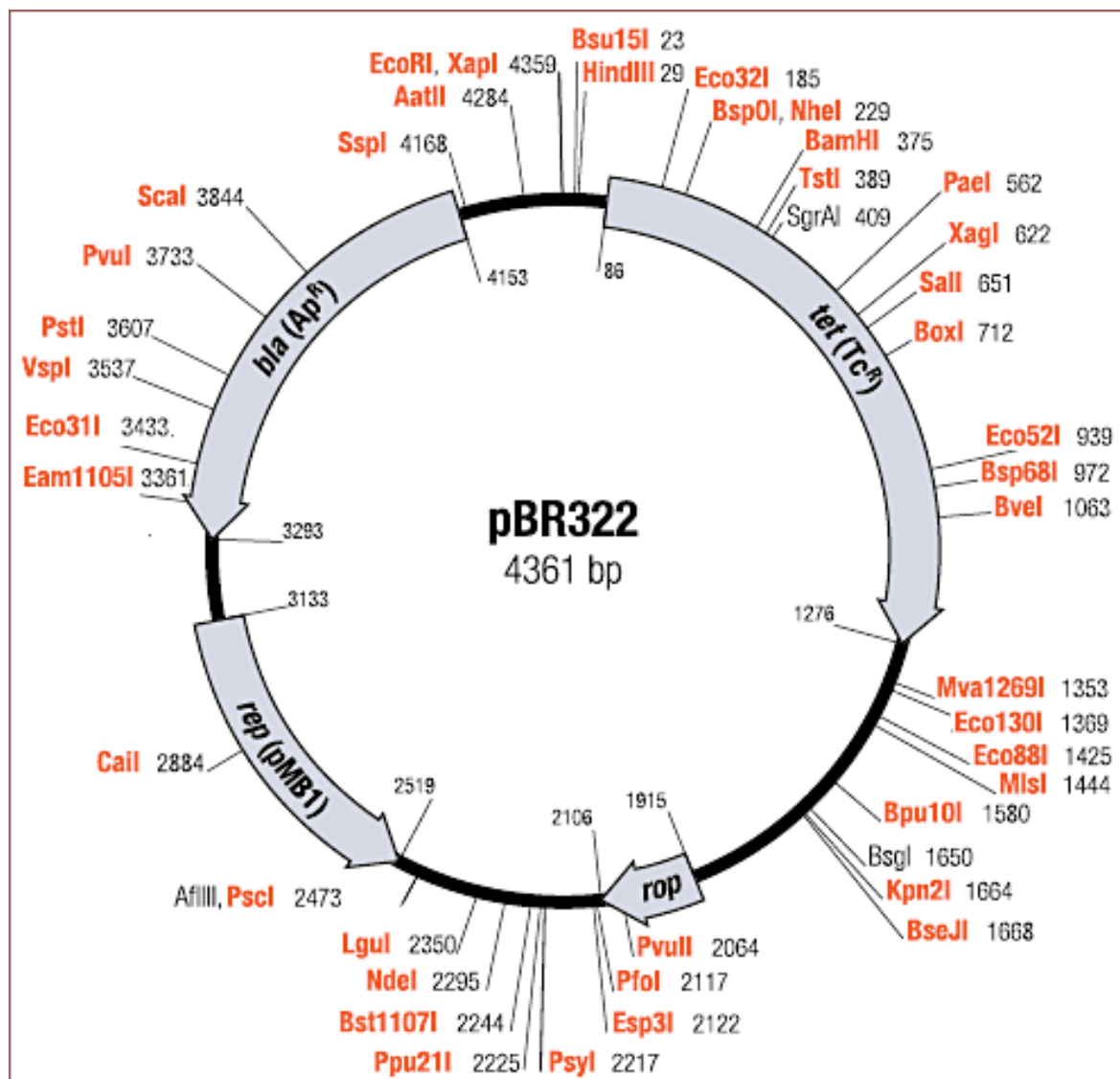
Na mapě jsou vyznačená místa štěpení restriktázami a poloha jednotlivých restrikčních míst v genomu

Rozpoznávací místo = místo rozpoznávané restriktázou

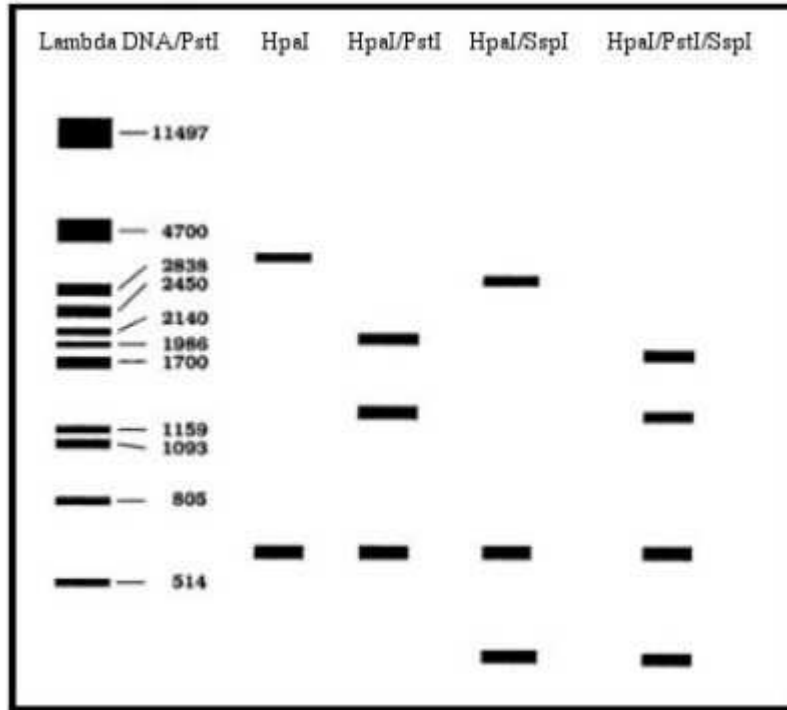
Restrikční místo = místo (sekvence DNA) v němž probíhá štěpení restriktázou

Restrikty (restrikční fragmenty) = DNA fragmenty vzniklé štěpením restriktázami

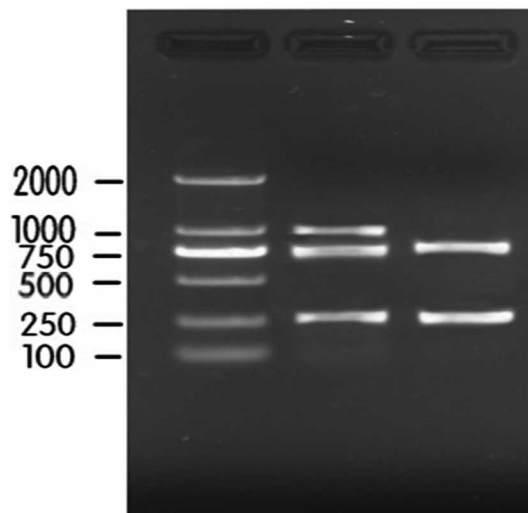
Vzdálenost RE míst je dána velikostí fragmentu DNA (v bp) mezi dvěma sousedními RE-místy



Velikost fragmentů ← elektroforéza



M 1 2



MAPOVÁNÍ DNA GENOMU POMOCÍ RESTRIKČNÍCH ENDONUKLEÁZ

potřeba zajistit identifikaci všech fragmentů

- malé fragmenty mohou být nezřetelné

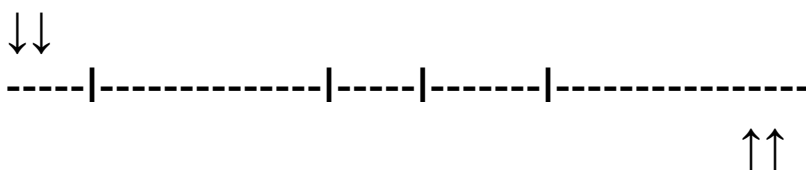
fragmenty jež mají přibližně stejnou velikost svítí přibližně stejnou intenzitou

- pokud ne – „dvojband“

Význam:

- charakterizace DNA
- i analýza příbuznosti
- hledání fenotypových markerů

Mapování s využitím exonukleázy:



1. Exonukleáza k DNA v různých časových intervalech
2. Zastavení reakce
3. Štěpení restričními endonukleázami
4. Elektroforéza

Metoda hledání překryvů mezi sekundárními fragmenty v rámci primárních fragmentů

Dva fragmenty se mohou překrývat jestliže obsahují sekundární fragment stejné délky

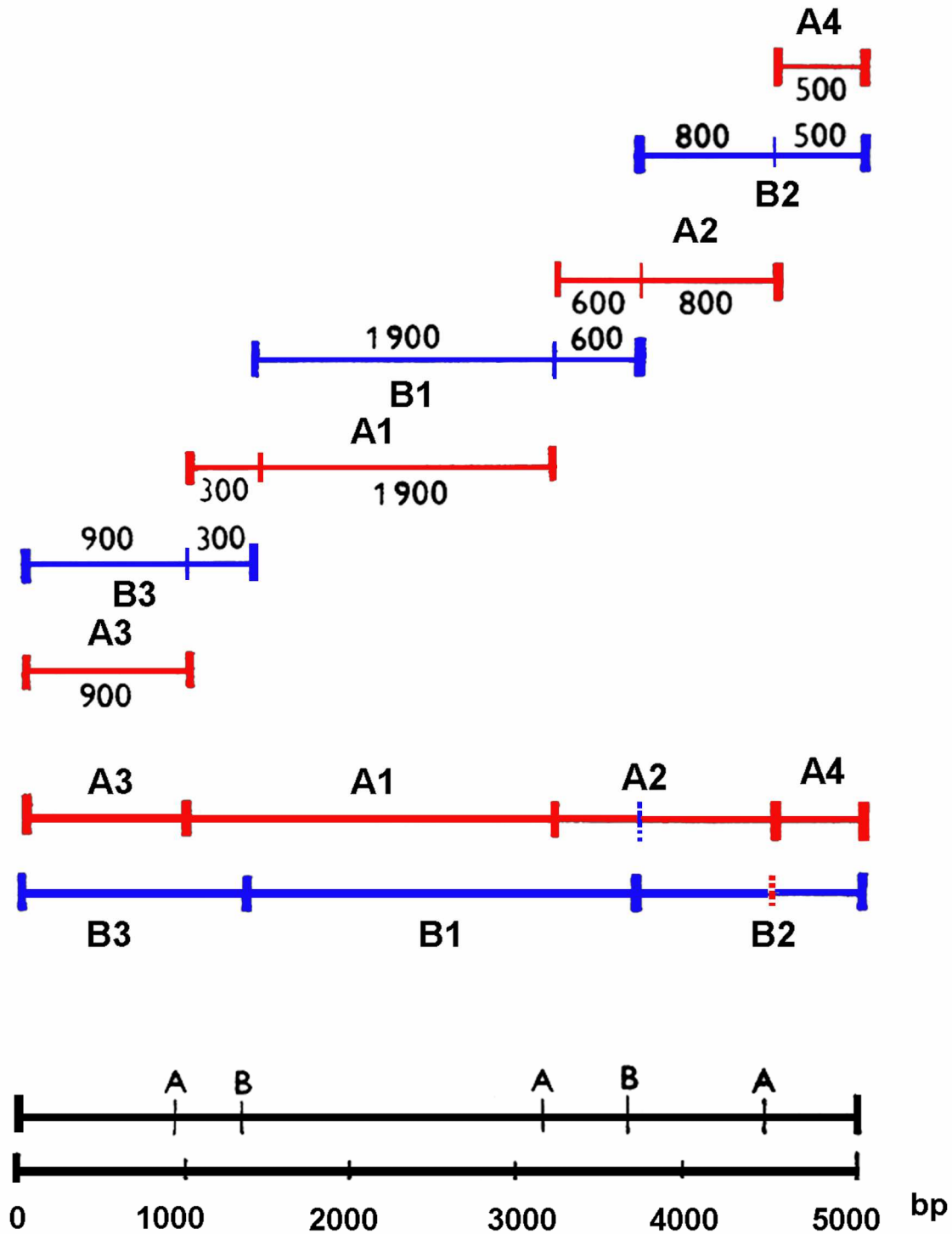
Součet velikosti prim a sec. fragmentů se musí shodovat

Součet velikosti prim. fragmentů v obou štěpeních musí být shodný

Primární fragment	A1	A2	A3	A4
Velikost primárního fragmentu	2200	1400	900	500
Velikost sekundárních fragmentu	1900 300	800 600	900	500

B1	B2	B3
2500	1300	1200
1900 600	800 500	900 300

Konstrukce restriční mapy



Primární fragment	A1	A2	A3	A4
Velikost primárního fragmentu	800	500	700	300
Velikost sekundárních fragmentů	800	300 200	400 300	200 100

B1	B2	B3	B4
500	700	1000	100
300 200	400 300	800 200	100