

PRACOVNÍ LIST V

Pulzní gelová elektroforéza (PFGE)

Vypracoval:

Jméno, Příjmení, UČO

Semestr (skupina)

1. *In silico* PFGE

Pomocí nástroje <http://insilico.ehu.es/digest/> proveďte *in silico* PFGE genomu *Staphylococcus aureus subsp. aureus N315*.

Použijte restriktázu *SmaI*.

- a) Kolik fragmentů vznikne takovýmto štěpením.

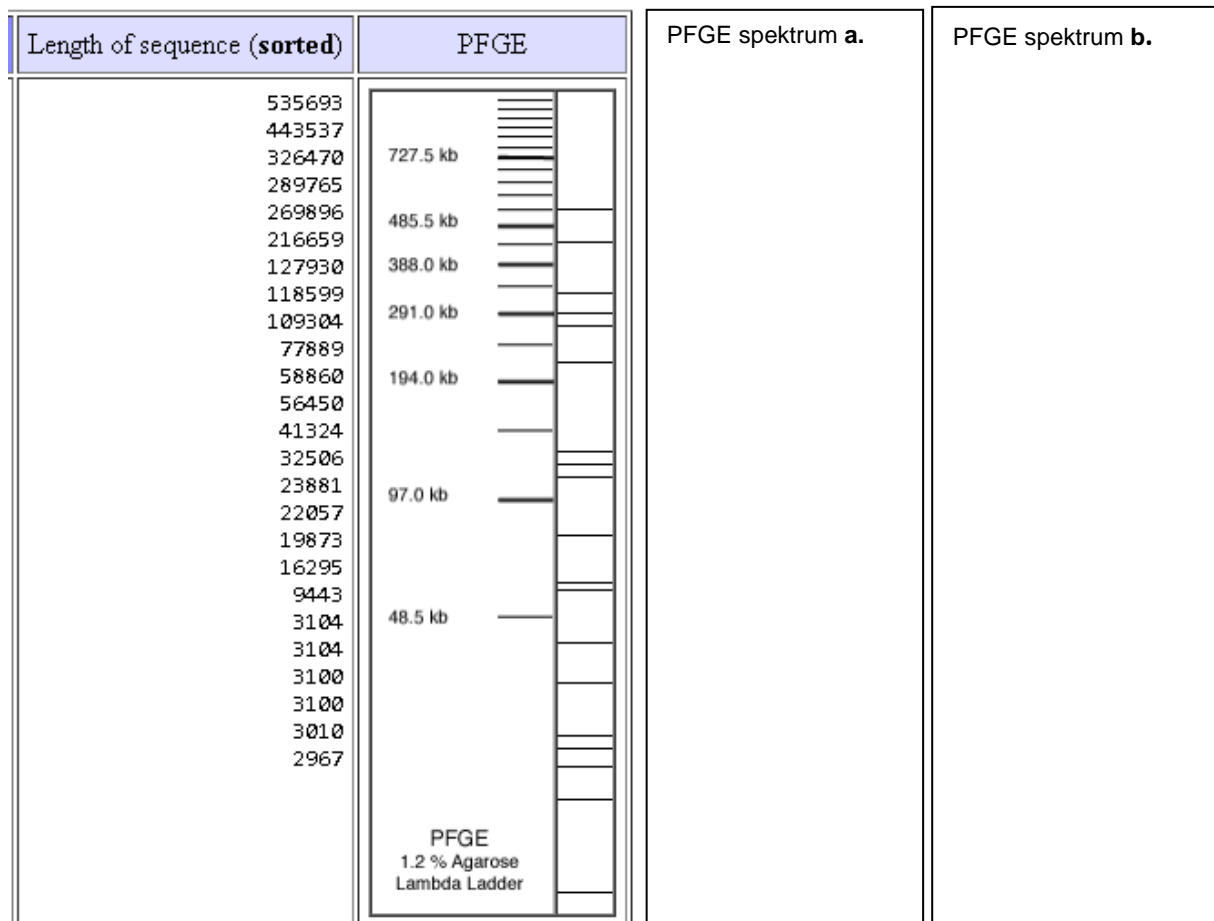
- b) Jaká je sekvence rozpoznávacího místa pro restriktázu *SmaI*

- c) Jakou další restriktázu (případně restriktázy) by bylo možné použít, abychom získali 20 až 30 fragmentů DNA.

- d) Jaké enzymy byste využili pro PFGE u jiných druhů bakterií? Uveďte tři příklady.

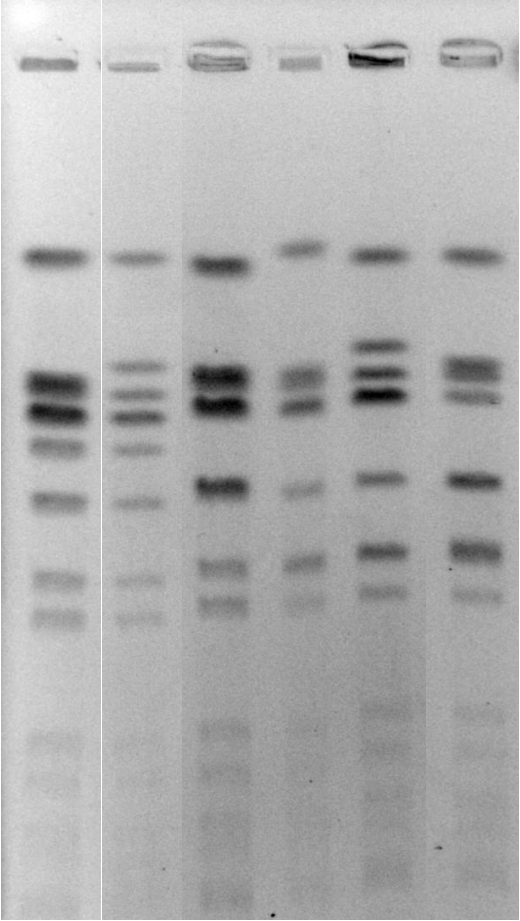
2. Změna restrikčního spektra:

Na následujícím schématu *in silico* PFGE genomu *S. aureus* vyznačte a slovně popište, jak by se na restrikčním spektru projevila:



- a) Integrace bakteriofága o přibližné velikosti genomu 44 kb, který nese restriční místo pro *Sma*I. Uvažujte začlenění do fragmentu o velikosti 77 889 bp.
- b) Mutace vedoucí ke vzniku nového *Sma*I restričního místa, které rozdělí fragment o velikosti 216 659 bp cca na poloviny.
3. Na obrázku elektroforetického gelu genomové DNA vybraných stafylokokových kmenů štěpených restriktázou *Sma*I vyznačte a slovně popište změnu v restričním spektru, která nastala. Srovnajte s Vašimi výsledky.

- a) Integrací fága 53 do genomu kmene PS47
- b) Integrací fága 11 do genomu kmene ISP8
- c) Integrací fága 47 do genomu kmene ISP8
- d) Integrací fága 77 do genomu kmene ISP8



PS47

PS47 (53+)

ISP8

ISP8 (11+)

ISP8 (47+)

ISP8 (77+)

