

PRACOVNÍ LIST V.

PULZNÍ GELOVÁ ELEKTROFORÉZA (PFGE)

Vypracoval:

Jméno, Příjmení, UČO

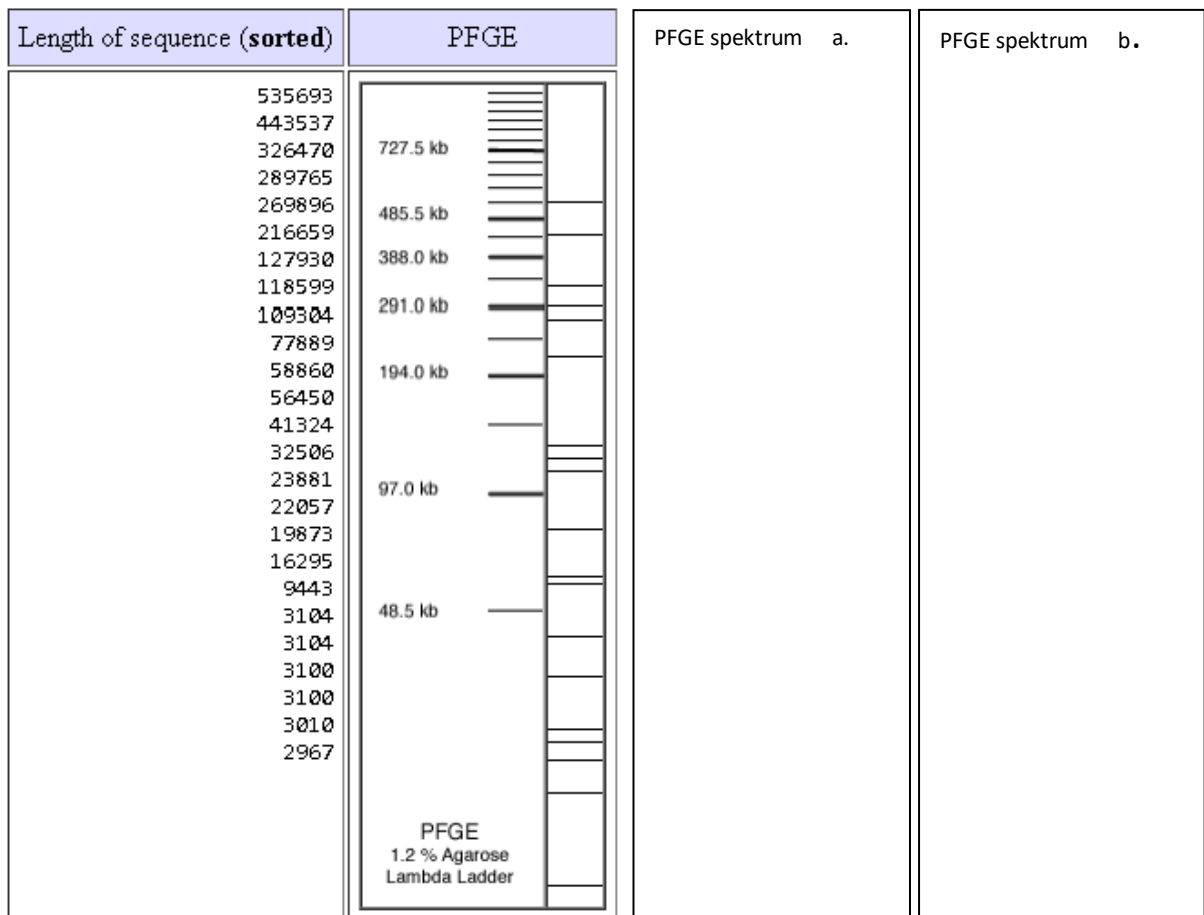
Semestr (skupina)

1. *In silico* PFGE

- Pomocí nástroje <http://insilico.ehu.es/digest/> proveďte *in silico* PFGE genomu *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* N315.
- Použijte restriktázu *Sma*I.
 - a) Kolik fragmentů vznikne takovýmto štěpením?
 - b) Jaká je sekvence rozpoznávacího místa pro restriktázu *Sma*I?
 - 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 restriktčního spektra:

- Na následujícím schématu *in silico* PFGE genomu *S. aureus* vyznačte a slovně popište, jak by se na restriktčním spektru projevila:
 - a) Integrace bakteriofága o přibližné velikosti genomu 44 kb, který nenesou restriktční místo pro *Sma*I. Uvažujte začlenění do fragmentu o velikosti 77 889 bp.
 - b) Mutace vedoucí ke vzniku nového *Sma*I restriktčního místa, které rozdělí fragment o velikosti 216 659 bp cca na poloviny.



3. Na obrázku elektroforetického gelu genomové DNA vybraných stafylokokových kmenů štěpených restrikázíou *Sma*I vyznačte a slovně popište změnu v restrikčním spektru, která nastala. Srovnajte s Vašimi výsledky.

- Integraci fága 53 do genomu kmene S47
- Integraci fága 11 do genomu kmene ISP8
- Integraci fága 47 do genomu kmene ISP8
- Integraci fága 77 do genomu kmene ISP8

