

# PRACOVNÍ LIST VI.

## PLAZMIDY

### Vypracoval:

Jméno, Příjmení, UČO .....

Semestr (skupina) .....

### 1. Navržení primerů

- Navrhňte primery pro plazmidový gen tetK (kóduje protein pro efluxní pumpu – navozuje rezistenci k tetracyklinu).
- Přístupové číslo proteinu TetK je YP\_006958133 ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/YP\\_006958133.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/YP_006958133.1)).

a) Napište nukleotidovou sekvenci navržených primerů ve směru 5' - 3' a jejich Tm teplotu.

primer tetK\_F: ..... Tm: .....

primer tetK\_R: ..... Tm: .....

b) Navrhňte program PCR reakce a složení PCR směsi, budete-li používat:

**OneTaq® 2X Master Mix with Standard Buffer**

(<https://international.neb.com/products/m0482-onetaq-2x-master-mix-with-standard-buffer#Product%20Information>)

Řiďte se doporučením výrobce.

### Program PCR:

	Teplota	Doba trvání v sekundách	Počet opakování
Počáteční denaturace			
Denaturace			
Připojení primerů			
Prodlužování primerů			
Závěrečné prodlužování primerů			

**PCR směs:**

Reagencie	Zásobní koncentrace	Výsledná koncentrace	O bjem (μl) pro jednu reakci
One Taq® 2X Master Mix with Standard Buffer	2x	1x	.....
primer -F	10 μM	0.2 μM	.....
primer -R	10 μM	0.2 μM	.....
Templátová DNA	.....	< 1000 ng	.....
Voda	x	x	.....
Celkem			25,0 μl

**2. Seřadte jednotlivé typy konformace plazmidů podle jejich elektroforetické mobility od nejnižší po nejvyšší a přiložte elektroforetogram Vašich vzorků:**

- Štěpená, otevřená cirkulární forma (nicked)
- Uvolněná cirkulární forma (relax circular)
- Lineární forma (linear)
- Superspiralizovaná forma (supercoiled)