



АНАЛІЗ РЕСТРИКЦІЙНИХ КАРТ

Мета роботи: дослідити сайти рестрикції рестриктаз та проаналізувати можливість їх використання при дослідженні організації геномів організмів.

Хід роботи:

1. У подарунок за успішну участь у науковій конференції ви отримали від фірми “Fermentas” набір рестриктаз (нуклеаз, що розрізають молекулу ДНК у певних ділянках – сайтах рестрикції). Дві з них, *BamHI* та *Sau3A*, мають дуже схожі сайти рестрикції. Для рестриктази *BamHI* сайт рестрикції G↓GATC↓C, рестриктази *Sau3A* – N↓GATC↓N (стрілки вказують місця рестрикції, N – будь-який нуклеотид).

Керівник вашої лабораторії вважає, що, в разі необхідності, ці рестриктази можуть бути взаємозамінні, і пропонує вам з'ясувати наступне (занотуйте відповіді у бланк):

- 1.1. Яка частка сайтів *BamHI* розщеплюється також *Sau3A*?
- 1.2. Яка частка сайтів *Sau3A* розщеплюється також *BamHI*?
- 1.3. Яка з даних рестриктаз може замінити іншу в разі необхідності?
2. Отримавши відповіді на дані питання, ви плануєте дослідити за допомогою рестриктази *BamHI* організацію геному мініхромосоми вільчастої інфузорії *Tetrahymena*, яка містить гени рРНК. Для цього ви проводите електрофорез в агарозному гелі цілої ДНК. При цьому ви отримуєте єдиний фронт, розміром 21 kb (кілобаз, тисяча пар основ), який співпадає з розміром лінійної молекули мініхромосоми (перша доріжка на електрофореграмі, див. малюнок). Мініхромосома має сайти для рестриктази *BamHI* і після рестрикції утворює два фрагменти 13,4 kb і 3,8 kb (доріжка 2). При денатурації і подальшій ренатурації цілої мініхромосоми (без рестрикції) з'являються дволанцюгові фрагменти ДНК, довжина яких дорівнює половині довжини мініхромосоми (доріжка 3). При денатурації/ренатурації та наступній обробці рестриктазою *BamHI* з'являються два фрагменти довжиною 6,7 kb та 3,8 kb (остання доріжка 4).
Аналізуючи електрофореграму, дайте відповіді на наступні питання:
- 2.1. Скільки сайтів рестрикції *BamHI* має дана мініхромосома?
- 2.2. Чому розмір дволанцюгового фрагменту при денатурації і подальшій ренатурації цілої мініхромосоми (без рестрикції) дорівнює половині довжини міні хромосоми?
- 2.3. Побудуйте схематичну рестриктну карту у вигляді відрізка, де ціна одного поділу буде рівна 1 kb, вказавши стрілками сайти рестрикції *BamHI*, та вкажіть, якою є загальна організація послідовностей в мініхромосомі.

БАЖАЄМО УСПІХУ!



АНАЛІЗ РЕСТРИКЦІЙНИХ КАРТ

Мета роботи: дослідити сайти рестрикції рестриктаз та проаналізувати можливість їх використання при дослідженні організації геномів організмів.

Хід роботи:

1. У подарунок за успішну участь у науковій конференції ви отримали від фірми “Fermentas” набір рестриктаз (нуклеаз, що розрізають молекулу ДНК у певних ділянках – сайтах рестрикції). Дві з них, *BamHI* та *Sau3A*, мають дуже схожі сайти рестрикції. Для рестриктази *BamHI* сайт рестрикції G↓GATC↓C, рестриктази *Sau3A* – N↓GATC↓N (стрілки вказують місця рестрикції, N – будь-який нуклеотид).

Керівник вашої лабораторії вважає, що, в разі необхідності, ці рестриктази можуть бути взаємозамінні, і пропонує вам з'ясувати наступне (занотуйте відповіді у бланк):

- 1.1. Яка частка сайтів *BamHI* розщеплюється також *Sau3A*?
- 1.2. Яка частка сайтів *Sau3A* розщеплюється також *BamHI*?
- 1.3. Яка з даних рестриктаз може замінити іншу в разі необхідності?
2. Отримавши відповіді на дані питання, ви плануєте дослідити за допомогою рестриктази *BamHI* організацію геному мініхромосоми вільчастої інфузорії *Tetrahymena*, яка містить гени рРНК. Для цього ви проводите електрофорез в агарозному гелі цілої ДНК. При цьому ви отримуєте єдиний фронт, розміром 21 kb (кілобаз, тисяча пар основ), який співпадає з розміром лінійної молекули мініхромосоми (перша доріжка на електрофореграмі, див. малюнок). Мініхромосома має сайти для рестриктази *BamHI* і після рестрикції утворює два фрагменти 13,4 kb і 3,8 kb (доріжка 2). При денатурації і подальшій ренатурації цілої мініхромосоми (без рестрикції) з'являються дволанцюгові фрагменти ДНК, довжина яких дорівнює половині довжини мініхромосоми (доріжка 3). При денатурації/ренатурації та наступній обробці рестриктазою *BamHI* з'являються два фрагменти довжиною 6,7 kb та 3,8 kb (остання доріжка 4).
Аналізуючи електрофореграму, дайте відповіді на наступні питання:
- 2.1. Скільки сайтів рестрикції *BamHI* має дана мініхромосома?
- 2.2. Чому розмір дволанцюгового фрагменту при денатурації і подальшій ренатурації цілої мініхромосоми (без рестрикції) дорівнює половині довжини міні хромосоми?
- 2.3. Побудуйте схематичну рестриктну карту у вигляді відрізка, де ціна одного поділу буде рівна 1 kb, вказавши стрілками сайти рестрикції *BamHI*, та вкажіть, якою є загальна організація послідовностей в мініхромосомі.

БАЖАЄМО УСПІХУ!