

ΠΕΙΡΑΜΑ 7: Μελέτη της δράσης συγκεκριμένων περιοριστικών ενζύμων στο λ-DNA (Αναφορά Εργαστηρίου)

Όν/μο (α): _____ Α.Μ.: _____

Ημέρα/Θέση: _____ Ημ/νία: _____

1.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ	1	2	3
10X ρυθμιστικό	3 μl	3μl	3μl
απιονισμένο νερό	21 μl	21μl	19μl
λDNA (0.4 μg/μl)	4 μl	4μl	4μl
HindIII	2μl	-	2μl
Mys	-	2μl	2μl

Επισυνάψτε τη φωτογραφία της πηκτής σημειώνοντας τις θέσεις στις οποίες έχετε τοποθετήσει τα δείγματά σας. Εάν αυτό δεν είναι εφικτό σχεδιάστε την εικόνα της πηκτής σε ξεχωριστό χαρτί.

2. Παρατηρήστε την εικόνα της πηκτής που έχετε σχεδιάσει. Περιγράψτε τη δράση και το ρόλο του βρωμιούχου αιθιδίου ώστε να είναι δυνατή η παρατήρηση των τμημάτων του DNA κάτω από τη λάμπα UV.

.....
.....
.....
.....
.....
.....

3. Παρατηρήστε τις αποστάσεις που έχουν μετακινηθεί τα κομμάτια του DNA από το σημείο τοποθέτησης τους στην πηκτική. Αν αυτό δεν είναι εφικτό για όλα τα δείγματα, να το εφαρμόσετε τουλάχιστον στην πέψη με το HindIII (marker). Αρχίστε από τις μπάντες που βρίσκονται ψηλότερα (πιο κοντά στα πηγαδάκια).

4. Ποια κομμάτια του DNA από τη μια πέψη έχουν στο εσωτερικό τους θέση περιορισμού για την άλλη ενδονουκλεάση; (Π.χ. το 6.5-kb-HindIII κομμάτι έχει στο εσωτερικό του μια θέση περιορισμού για το Mys ένζυμο...)

5. Έχοντας δεδομένες τις θέσεις περιορισμού του HindIII και το μέγεθος των DNA κομματιών, τα DNA μεγέθη της πέψης με το Mys που υπολογίσατε και τις πληροφορίες από τη διπλή πέψη, φτιάξτε το χάρτη περιορισμού γι' αυτά τα δυο ένζυμα. Προσπαθήστε να τοποθετήσετε τις θέσεις περιορισμού του HindIII πάνω από τη γραμμή και τις θέσεις περιορισμού του Mys από κάτω. Εάν τα αποτελέσματα που έχετε δεν επιτρέπουν κάτι τέτοιο χρησιμοποιήστε (αν υπάρχει) μια καλύτερη πηκτική από τους συναδέλφους σας.