

Zadania do Wykładu 04:

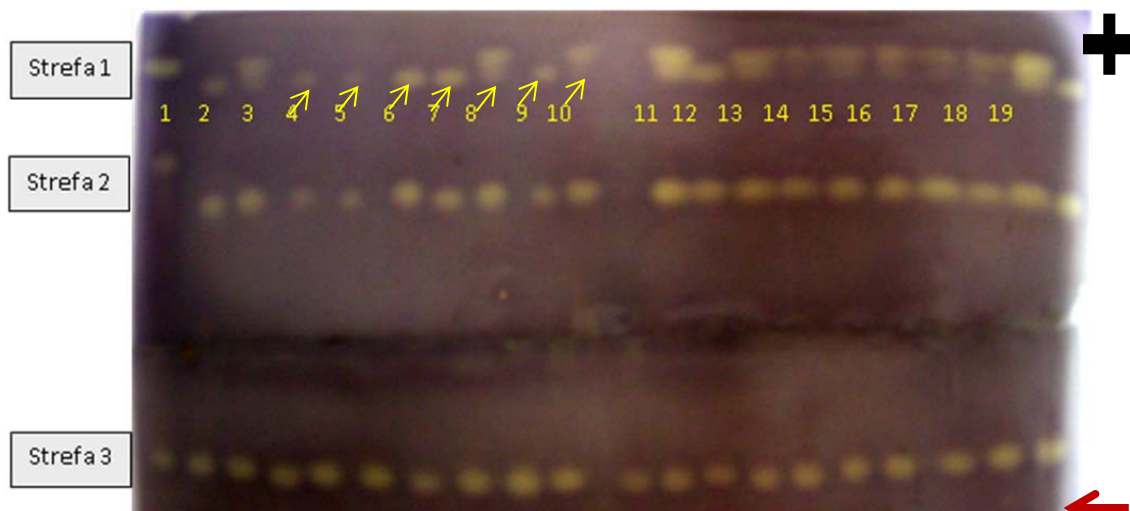
Markery genetyczne

Kornelia Polok

1. Markery izoenzymatyczne

1.1. Odczytywanie zymogramów

Na rysunku poniżej przedstawiono rozdział elektroforetyczny izoenzymów dysmutazy nadtlenkowej (SOD). Wiedząc, że aktywny enzym jest monomerym zinterpretuj uzyskany żel. Strzałka oznacza miejsce nałożenia prób. Proszę odczytu dokonać w komputerze.



- Ile izoenzymów uwarunkowanych różnymi genami widoczne jest na żelu. Oznacz te geny za pomocą symbolu *Sod* i odpowiedniego numeru przyjmując 1 dla izoenzymów o największej ruchliwości.
- Ile alleli możemy wyróżnić w każdej ze stref?
- W której strefie obserwujemy allozymy?
- Przyjmując oznaczenia A1 dla allela warunkującego enzym o wyższej ruchliwości i A2 dla allela warunkującego enzym o niższej ruchliwości podaj genotypy osobników 1–10.

Samodzielne wykonanie: 3 p.

Termin: 12.05.2020.

Ocena: 19.05.2020.

2. Enzymy restrykcyjne.

2.1. Cięcie enzymami restrykcyjnymi wybranych sekwencji człowieka

Dehydrogenaza 6-fosfoglukonowa jest istotnym enzymem cyklu pentozowego. Brak tego enzymu u człowieka powoduje hemolizę. Izoenzymy są krótsze od wariantu podstawowego na skutek mutacji typu delecji/insercji, która przesuwa ramkę odczytu. Proszę przeprowadzić analizę restrykcyjną genu kodującego 6-PGD.

- Proszę wejść na stronę NEB cutter: <http://nc2.neb.com/NEBcutter2/>
- W dużej białej ramce proszę wkleić sekwencję dostarczoną w pliku „Human 6PGD”.
- Pozostałe parametry proszę pozostawić bez zmian (minimum ORF klength, NEB enzymes, standard sequences).
- Proszę wybrać „submit”.
- Otrzymamy schemat genu i miejsc restrykcyjnych wraz z nazwami enzymów.
- Proszę wybrać „Custom digest” i zaakceptować na dole strony „Digest”

- Na liście, która się pojawi proszę wybrać *BsmI* i *MspI*. Następnie korzystając z listy oraz
 - wyników analizy proszę podać następujące informacje.
- A. Ile jest miejsc cięcia dla *BsmI*? Proszę podać pozycję cięcia, rozpoznawaną sekwencję oraz jaki typ końców powstaje w wyniku cięcia *BsmI*?
 - B. Ile jest miejsc cięcia dla *MspI*? Proszę podać pozycję cięcia, rozpoznawaną sekwencję oraz jaki typ końców powstaje w wyniku cięcia *MspI*?
 - C. Korzystając z pozycji „View gel”, proszę pokazać otrzymane fragmenty na 2% żelu agarozowym.
 - D. Ile powstanie fragmentów jeżeli sekwencja genu 6PGD nie jest zmetylowana?
 - E. Ile powstanie fragmentów jeżeli sekwencja genu 6PGD jest zmetylowana?
 - F. Jaka jest długość fragmentów, które powstanie w wyniku przecięcia genu tylko przez *BsmI*?
 - G. Ile jest i jak długie są fragmenty, które powstaną w wyniku przecięcia jednocześnie przez *MspI* i *BsmI*?

Samodzielne wykonanie: 3 p.

Termin: 12.05.2020.

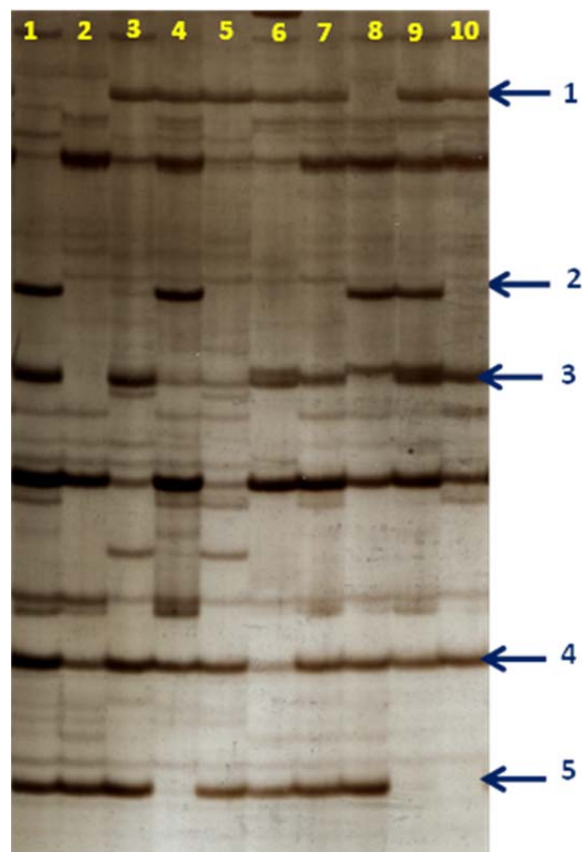
Ocena: 19.05.2020.

3. Markery SSAP

3.1. Określenie liczby miejsc insercji.

Poniżej przedstawiono fragment żelu poliakrylamidowego pokazujący rozdział produktów reakcji SSAP przy użyciu startera komplementarnego do transpozonu CACTA u 10 osobników. Proszę na podstawie stref zaznaczonych strzałkami uzupełnić poniższą tabelę. Proszę odczytu dokonać w komputerze.

Osobnik	Liczba insercji transpozonu CACTA
1.	
2.	
3.	
4.	
5.	
6.	
7.	
8.	
9.	
10.	
Średnia liczba insercji u w badanej grupie osobników.	
Nr strefy monomorficznej	



Samodzielne wykonanie: 2 p.

Termin: 12.05.2020.

Ocena: 19.05.2020.