

## INNEHÅLL

---

1. Introduktion till Webcutter	1
2. Introduktion till NCBI	2
3. Analys av vår plasmid för att hitta lämpliga restriktionsenzymer	2
4. Klipp ur och klistra in	2

## DATORLABORATION I

### 1. Introduktion till Webcutter

Vi skall använda Webcutter för att undersöka nukleotidsekvenser med avseende på dess klyvningspunkter för restriktionsenzymer.

För att bekanta dig med Webcutter ska du analysera följande sekvens:

**ATTCGGGACAAACCAATCTTATACATTCTTTACCTGGAATTCCTTT-  
CTCTTAATTCTACATTAAGGATTTAGGGATTTTATTTATTATTTTA**

Klistra in denna sekvens i Webcutter's sekvensruta. Använd samtliga förvalda alternativ och klicka på knappen "Analyze sequence". Vilka enzymer klyver i denna sekvens? EcoRI delar DNA-molekylen i två delar. Svara på följande frågor:

EcoRI känner igen och klyver vid sekvensen .....

EcoRI klyver vid position nr ..... och ger två fragment som är ..... bp respektive ..... bp långa.

Gå tillbaka till de förvalda alternativen och ställ in så att du kan svara på följande:

Hur många enzymer finns det totalt som kan klyva sekvensen?

Ibland ser man andra bokstäver än **GCAT** i sekvensen som enzymet känner igen  
[http://en.wikipedia.org/wiki/List\\_of\\_restriction\\_enzyme\\_cutting\\_sites:\\_Ba-Bc](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_restriction_enzyme_cutting_sites:_Ba-Bc).

Vad står bokstaven y för?

Vad står bokstaven n för?

## 2. Introduktion till NCBI

[http://sv.wikipedia.org/wiki/National\\_Center\\_for\\_Biotechnology\\_Information](http://sv.wikipedia.org/wiki/National_Center_for_Biotechnology_Information)

Ge två exempel på information som man kan hitta på ncbi:

Skriv in "breast cancer" i sökrutan och besvara följande frågor:

Hur många vetenskapliga artiklar finns det på ncbi med koppling till sökorden?

Hur många nukleotider finns det med koppling till sökordet och hur många av dessa är gener från människa?

För att olika analysprogram ska känna igen sekvenser (vad som är namnet på sekvensen och vad som är sekvens) så använder man sig ofta av FASTA-format.

Namnraden i FASTA-format börjar med tecknet:

## 3. Analys av vår plasmid för att hitta lämpliga restriktionsenzymer

Gå till <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> och hitta vår plasmid (pSpiro som är 4071 bp). Kopiera sekvensen i FASTA-format och analysera det i Webcutter.

## 4. Klipp ur och klistra in

Försök att klippa ut genen för ampicillinresistens.

Vilka enzym väljer du?

Montera in den i pBR322, (den får då ytterligare en ampresistensgen).

Hur stor blir plasmiden med den nya genen då?