

## Informační panel - Základní data o nukleových kyselinách a proteinech

Převzato z: Bartoš et al. (2009): Biotechnologie a farmakogenetika pro farmaceuty  
(Návody k praktickým cvičením), VFU Brno, ISBN: 978-80-7305-089-4

Počet částic v jednom molu =  $6,023 \times 10^{23}$

Průměrná molekulová hmotnost páru bazí v DNA = 650

Průměrná molekulová hmotnost bazí v RNA = 360

Průměrná molekulová hmotnost aminokyseliny = 110

Pro dsDNA když  $A_{260} = 1,0$  v 1 cm kyvetě, pak koncentrace dsDNA =  $50 \mu\text{g/ml} = 0,15 \text{ mM}$

Pro ssDNA když  $A_{260} = 1,0$  v 1 cm kyvetě, pak koncentrace ssDNA =  $33 \mu\text{g/ml} = 0,10 \text{ mM}$

Pro ssRNA když  $A_{260} = 1,0$  v 1 cm kyvetě, pak koncentrace ssRNA =  $40 \mu\text{g/ml} = 0,11 \text{ mM}$

Molekulová hmotnost dsDNA = (počet bp) x 650

Počet molů konců dsDNA =  $2 \times (\text{hmotnost DNA v gramech}) / (\text{molekulová hmotnost})$

Počet molů konců vytvořených restričním štěpením

a) kružnicová DNA =  $2 \times (\text{moly DNA}) \times (\text{počet štěpných míst})$

b) lineární DNA =  $2 \times (\text{moly DNA}) \times (\text{počet štěpných míst}) + 2 \times (\text{moly DNA})$

$1 \mu\text{g}$  DNA o délce 1 000 bp =  $1,5 \text{ pmol} = 9,1 \times 10^{11}$  molekul

$1 \mu\text{g}$  DNA plasmidu pUC18/19 (délka 2 686 bp) =  $0,57 \text{ pmol} = 3,4 \times 10^{11}$  molekul

$1 \mu\text{g}$  DNA plasmidu pBR322 (délka 4 361 bp) =  $0,35 \text{ pmol} = 2,1 \times 10^{11}$  molekul

$1 \mu\text{g}$  DNA fága M13mp18/19 (délka 7 249 bp) =  $0,21 \text{ pmol} = 1,3 \times 10^{11}$  molekul

$1 \mu\text{g}$  DNA fága  $\lambda$  (délka 48 502 bp) =  $0,03 \text{ pmol} = 1,8 \times 10^{10}$  molekul

1 pmol DNA o délce 1 000 bp =  $0,66 \mu\text{g}$

1 pmol DNA plasmidu pUC18/19 (délka 2 686 bp) =  $1,77 \mu\text{g}$

1 pmol DNA plasmidu pBR322 (délka 4 361 bp) =  $2,88 \mu\text{g}$

1 pmol DNA fága M13mp18/19 (délka 7 249 bp) =  $4,78 \mu\text{g}$

1 pmol DNA fága  $\lambda$  (délka 48 502 bp) =  $32,01 \mu\text{g}$

DNA o délce 1,0 kb má kódovací kapacitu 333 aminokyselin = protein o  $M = 37\,000$

Protein o  $M = 10\,000$  může být kódován DNA o velikosti 270 bp

Protein o  $M = 50\,000$  může být kódován DNA o velikosti 1,55 kbp

## Informační panel - Vzorce užitečné pro design PCR

Převzato z: Bartoš et al. (2009): Biotechnologie a farmakogenetika pro farmaceuty  
(Návody k praktickým cvičením), VFU Brno, ISBN: 978-80-7305-089-4

### Přepočty koncentrací

Pro oligonukleotid platí, když  $A_{260} = 1,0$  v 1 cm kyvetě, pak jeho koncentrace = 20-30  $\mu\text{g/ml}$

### Molekulová hmotnost (M)

$$M = (N_A \times 312,2) + (N_G \times 328,2) + (N_C \times 288,2) + (N_T \times 303,2) + P$$

kde

$N_x$  = počet specifických nukleotidů (A, T, C nebo G) v oligonukleotidu

P = + 17 pro fosforylované oligonukleotidy

P = - 61 pro defosforylované oligonukleotidy

### Přepočet $\mu\text{g}$ na $\text{pmol}$

$$\begin{aligned} \text{pmol oligonukleotidu} &= \mu\text{g (oligonukleotidu)} \times (10^6 \text{ pg} / 1 \mu\text{g}) \times (1 \text{ pmol} / 330 \text{ pg}) \times (1/N) = \\ &= [\mu\text{g (oligonukleotidu)} \times 3,030] / N \end{aligned}$$

kde N = počet nukleotidů v oligonukleotidu

např. 1  $\mu\text{g}$  oligonukleotidu o délce 20 bazí je přibližně 151,5 pmol

### Přepočet $\text{pmol}$ na $\mu\text{g}$

$$\begin{aligned} \mu\text{g oligonukleotidu} &= \text{pmol (oligonukleotidu)} \times (330 \text{ pg} / 1 \text{ pmol}) \times (1 \mu\text{g} / 10^6 \text{ pg}) \times (N) = \\ &= \text{pmol (oligonukleotidu)} \times N \times 3,3 \cdot 10^{-4} \end{aligned}$$

kde N = počet nukleotidů v oligonukleotidu

např. 1 pmol oligonukleotidu o délce 20 bazí je přibližně 0,0066  $\mu\text{g}$

### Přepočet $\mu\text{M}$ na $\text{pmol}$

**1  $\mu\text{l}$  X  $\mu\text{M}$  roztoku primeru obsahuje X pmol primeru**

např. 1  $\mu\text{l}$  2,5  $\mu\text{M}$  roztoku primeru obsahuje 2,5 pmol primeru

### Přepočet $\text{pmol}$ na $\mu\text{M}$

**1  $\mu\text{l}$  roztoku primeru o koncentraci X pmol/ $\mu\text{l}$  má koncentraci primerů X  $\mu\text{M}$**

např. 1  $\mu\text{l}$  roztoku primeru o koncentraci 20 pmol/ $\mu\text{l}$  má koncentraci primerů 20  $\mu\text{M}$

## Informační panel - informace užitečné pro práci s PCR

Převzato z: Bartoš et al. (2009): Biotechnologie a farmakogenetika pro farmaceuty  
(Návody k praktickým cvičením), VFU Brno, ISBN: 978-80-7305-089-4

Zkratky používané pro označení bází v nukleotidech  
používá se např. při objednávání oligonukleotidů pro PCR

Kód	Značí	Kód	Značí
A	adenin	K	keto (T a G)
T	thymin	M	amino (C a A)
G	guanin	D	všechny kromě C
C	cytosin	V	všechny kromě T
Y	pyrimidiny (C a T)	H	všechny kromě G
R	puriny (A a G)	B	všechny kromě A
W	„weak“ (A a T)	N	všechny
S	„strong“ (G a C)	X	neznámý

### Výpočty teplot annealingu

*pro oligonukleotidy dlouhé 14 až 25 nukleotidů*

$$T_m = [2 \text{ °C} \times (\text{počet bází A a T})] + [4 \text{ °C} \times (\text{počet bází G a C})] +$$

*pro oligonukleotidy delší než 25 nukleotidů*

$$T_m = 81,5 \text{ °C} + 16,6 [\text{Na}^+] + 0,41 (\% \text{ GC}) - 0,61 (\% \text{ for}) - 500/N$$

kde

[Na<sup>+</sup>] = koncentrace Na<sup>+</sup> iontů

% GC = podíl nukleotidů G a C v sekvenci

% for = podíl formamidu v hybridizačním roztoku

### Vybrané odkazy na důležité www stránky

- 1) [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) = databáze sekvencí (Genová banka) a literárních odkazů
- 2) [www.dgb.org](http://www.dgb.org) = umístění lidských genů, fragmentů DNA, populace, polymorfismy, mapy, mutace
- 3) [www.rebase.neb.com](http://www.rebase.neb.com) = restriční enzymy a metylázy
- 4) [www.scop.mrc-lmb.cam.ac.uk/scop](http://www.scop.mrc-lmb.cam.ac.uk/scop) = klasifikace struktur proteinových domén
- 5) [www.expasy.ch/sprot](http://www.expasy.ch/sprot) = databáze proteinových sekvencí SWISS-PROT

## Informační panel - Tabulka standardního genetického kódu

Převzato z: Bartoš et al. (2009): Biotechnologie a farmakogenetika pro farmaceuty

(Návody k praktickým cvičením), VFU Brno, ISBN: 978-80-7305-089-4

kodony					
první nukleotid	druhý nukleotid				třetí nukleotid
	U	C	A	G	
<b>U</b>	Phe (F)	<b>Ser (S)</b>	Tyr (Y)	Cys (C)	<b>U</b>
	Phe (F)	<b>Ser (S)</b>	Tyr (Y)	Cys (C)	<b>C</b>
	Leu (L)	<b>Ser (S)</b>	terminace	terminace, SeC Pyr (O)	<b>A</b>
	Leu (L)	<b>Ser (S)</b>	terminace	Trp (W)	<b>G</b>
<b>C</b>	<b>Leu (L)</b>	<b>Pro (P)</b>	His (H)	<b>Arg (R)</b>	<b>U</b>
	<b>Leu (L)</b>	<b>Pro (P)</b>	His (H)	<b>Arg (R)</b>	<b>C</b>
	<b>Leu (L)</b>	<b>Pro (P)</b>	Gln (Q)	<b>Arg (R)</b>	<b>A</b>
	<b>Leu (L)</b>	<b>Pro (P)</b>	Gln (Q)	<b>Arg (R)</b>	<b>G</b>
<b>A</b>	Ile (I)	<b>Thr (T)</b>	Asn (N)	Ser (S)	<b>U</b>
	Ile (I)	<b>Thr (T)</b>	Asn (N)	Ser (S)	<b>C</b>
	Ile (I)	<b>Thr (T)</b>	Lys (K)	Arg (R)	<b>A</b>
	Met nebo iniciace	<b>Thr (T)</b>	Lys (K)	Arg (R)	<b>G</b>
<b>G</b>	<b>Val (V)</b>	<b>Ala (A)</b>	Asp (D)	Gly (G)	<b>U</b>
	<b>Val (V)</b>	<b>Ala (A)</b>	Asp (D)	Gly (G)	<b>C</b>
	<b>Val (V)</b>	<b>Ala (A)</b>	Glu (E)	Gly (G)	<b>A</b>
	<b>Val (V)</b>	<b>Ala (A)</b>	Glu (E)	Gly (G)	<b>G</b>

SeC = selenocystein

Pyr = pyrolysin

**Tučně jsou vyznačeny kodonové rodiny**

## Informační panel- Parametry prokaryotické buňky

Převzato z: Bartoš et al. (2009): Biotechnologie a farmakogenetika pro farmaceuty  
 (Návody k praktickým cvičením), VFU Brno, ISBN: 978-80-7305-089-4

### Složení bakteriální buňky

Hodnoty platí pro *Escherichia coli*, případně *Salmonella typhimurium*

Parametr	Na buňku	Na litr kultury (10 <sup>9</sup> buněk/ml)
Vlhká hmotnost	950 fg	950 mg
Suchá hmotnost	280 fg	280 mg
Obsah proteinů	155 fg	155 mg
Obsah genomové DNA	17 fg	17 mg
Obsah RNA	100 fg	100 mg
Objem	1,15 μm <sup>3</sup> = 1 pikolitr	
Vnitrobuněčná koncentrace proteinů	135 μg/ml	

### Antibiotika používaná v buněčných kulturách

Antibiotikum	Koncentrace	Gram <sup>+</sup> bakterie	Gram <sup>-</sup> bakterie	Mycoplasmata	Kvasinky	Stabilita při 37°C
ampicilin	50-100 mg/ml	+	+	-	-	3 dny
amfotericin B	0,25-25 μg/ml	-	-	-	+	3 dny
carbenicilin	100 U/ml	+	+	-	-	3 dny
ciprofloxacin	10 μg/ml			+		5 dnů
erythromycin	100 μg/ml	+	+	+	-	3 dny
gentamycin	5-50 μg/ml	+	+	+	+	3 dny
kanamycin	100 μg/ml	+	+	+/-	-	5 dnů
lincomycin	50 μg/ml	+	-	-	-	4 dny
neomycin	50 μg/ml	+	+	-	-	5 dnů
nystatin	100 U/ml	-	-	-	+	3 dny
penicilin G	50-100 U/ml	+	-	-	-	3 dny
polymixin B	100 U/ml	-	+	-	-	5 dnů
streptomycin	50-100 μg/ml	+	+	-	-	5 dnů
tetracyklin	5-10 μg/ml	+	+	+	-	3 dny