Problema

Una molecola di DNA lunga 16.000 nucleotidi (molecola A) viene trattata con 2 enzimi di restrizione, HindIII e SmaI, da soli o insieme; nella seguente tabella sono indicati gli enzimi usati e la lunghezza dei frammenti di DNA dopo che il DNA stesso è stato tagliato da questi enzimi (“frammenti di restrizione”):

|  |  |
| --- | --- |
| trattamento con gli enzimi di restrizione  | Lunghezza (n° di nucleotidi) dei frammenti di restrizione  |
| *HindIII*  | 6.000+10.000  |
| *SmaI*  | 5.000+11.000  |
| *Hind*III + *Sma*I  | 2.000+3.000+4.000+7.000  |

Indicare la sequenza dei siti di restrizione dei 2 enzimi e la loro distanza (mappe di restrizione)

Soluzione

Spiegazione: la molecola A è circolare, dato che il numero dei frammenti di restrizione ottenuti con la digestione con entrambi gli enzimi è pari alla somma dei numeri di frammenti ottenuti con la digestione con *Hind* III e con *Sma* I.

Dato che la molecola A è circolare e che in tutto ci sono 2 siti di restrizione sia per Sma I che per Hind III, ciascuno dei quali enzimi rompe la molecola circolare in 2 frammenti lineari di restrizione, le coppie dei siti di restrizione di ciascun enzima possono essere in tandem (...Hind III - Hind III - Sma I - Sma I...) o alternati (...Hind III - Sma I - Hind III - Sma I...).

Nel primo caso ci si aspetta che nella doppia digestione ci sia un frammento di restrizione di pari lunghezza rispetto a uno dei 2 frammenti di restrizione di Hind III e un’altro frammento di restrizione di pari lunghezza rispetto a uno dei 2 frammenti di restrizione di Sma I; nel secondo caso ci si aspetta che sommando a 2 a 2 le lunghezze dei 4 frammenti di restrizione dovuti a digestione doppia, in 2 combinazioni diverse, si ottengano le lunghezze dei frammenti di restrizione di Hind III e Sma I; in effetti si verifica questo secondo caso.

A questo punto occorre allineare i 4 frammenti dovuti alla digestione doppia in modo che sommando la sua lunghezza con quella del frammento adiacente a sinistra si ottenga la lunghezza di un frammento di restrizione di uno dei 2 enzimi, mentre sommandola con quella del frammento adiacente a destra si ottenga la lunghezza di un frammento di restrizione dell’altro enzima.

