

Feladat szám: 55.

Tervezzon a primer tervező programmal (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>) egy megfelelő bal vagy jobb primert az alábbi nukleotid-szekvencia egy részének PCR-amplifikációjához. Adja meg, hogy a program által elfogadott bal és jobb primer a szekvencia hányadik nukleotidjától hányadikig amplifikálja a szekvenciát! (vagy másolja ki a megjelenített szekvenciát). Az NCBI blast segítségével egy 25-30 tagú nukleotid-szekvencia alapján azonosítsa, milyen kórokozó genomjából származhat a szekvencia és milyen betegsége(ke)t okozhat a kórokozó!

TAGATTATAATCTACAAAGTAAATTACATTACCTAATGATAGGACAACCCAGTTACAAAAGGAATTCC
ATATGCTCCAAAATATAAAAGTAATGCTGCAAGTACAATAGAAATACATAATATTGATGACAATACAATA
TATCAATATTTGTATGCTCAAAAATCTCCTACAACCTACAAAGAATAACTATGACTAATTCTGTGATG
ACGCATTAATAAATTCCACCAAAATATATTCATATTTTCCATCTGTAATCAGTAAAGTTAACCAAGGTGC
ACAAGGAATTTTATTCTTACAGTGGGTGAGAGATATAATTGATGATTTTACCAATGAATCTTCACAAAAA
ACTACTATTGATAAAATTTTACAGATGTATCCACTATTGTTCTTATATAGGACCCGCATTAAACATTGTAA
AACAAGGCTATGAGGGAACTTTATAGGTGCTTTAGAACTACCGGAGTGTTTATTATTATTGGAATATAT
TCCAGAAATTACTTTACAGTAATTGCAGCTTTATCTATAGCAGAAAAGTAGCACACAAAAAGAAAAGATA
ATAAAAACAATAGATAACTTTTTAGAAAAAAGATATGAAAAATGGATTGAAGTATATAAACTAATAAAAAG
CAAAATGGTTAGGCACAGTTAATACGCAATTCACAAAAAGAAGTTATCAAATGTATAGATCTTTAGAATA

Primer tervezés eredménye:

OLIGO	<u>start</u>	<u>len</u>	<u>tm</u>	<u>gc%</u>	<u>any</u>	<u>3'</u>	<u>seq</u>
LEFT PRIMER	268	21	60.52	42.86	6.00	0.00	
TTAACCAAGGTGCACAAGGAA							
RIGHT PRIMER	417	20	59.82	45.00	4.00	1.00	
CAATGTTTAATGCGGGTCCT							
SEQUENCE SIZE: 703							
INCLUDED REGION SIZE: 703							

ADDITIONAL OLIGOS

	<u>start</u>	<u>len</u>	<u>tm</u>	<u>gc%</u>	<u>any</u>	<u>3'</u>	<u>seq</u>
1 LEFT PRIMER	268	20	59.17	45.00	6.00	0.00	
TTAACCAAGGTGCACAAGGA							
RIGHT PRIMER	417	21	59.84	42.86	4.00	2.00	
CAATGTTTAATGCGGGTCCTA							
PRODUCT SIZE: 150, PAIR ANY COMPL: 5.00, PAIR 3' COMPL: 3.00							
2 LEFT PRIMER	266	21	59.16	47.62	6.00	2.00	
AGTTAACCAAGGTGCACAAGG							
RIGHT PRIMER	417	20	59.82	45.00	4.00	1.00	
CAATGTTTAATGCGGGTCCT							
PRODUCT SIZE: 152, PAIR ANY COMPL: 5.00, PAIR 3' COMPL: 3.00							
3 LEFT PRIMER	267	20	58.13	50.00	6.00	2.00	
GTTAACCAAGGTGCACAAGG							
RIGHT PRIMER	417	20	59.82	45.00	4.00	1.00	
CAATGTTTAATGCGGGTCCT							
PRODUCT SIZE: 151, PAIR ANY COMPL: 5.00, PAIR 3' COMPL: 3.00							
4 LEFT PRIMER	63	21	58.89	38.10	8.00	0.00	
GGAATTCATATGCTCCAAA							
RIGHT PRIMER	291	20	59.97	45.00	6.00	2.00	
AAATTCCTTGTGCACCTTG							
PRODUCT SIZE: 229, PAIR ANY COMPL: 6.00, PAIR 3' COMPL: 3.00							

Az első primerpárnak van legközelebb egymáshoz az olvadáspontjai, ezért jó választás.

NCBI Blast:

A programba az alábbi szekvencia sort alkalmaztam: TAGATTATAATCTACAAAGTAAAT

158 találat lett, az alábbi volt a legjobb 10:

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

	Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
☐	Clostridium tetani E88 plasmid pE88, complete sequence	52.0	182	100%	4e-05	100.00%	NC_004565.1
☐	Chryseobacterium aquaticum strain KCTC 12483 Contig02, whole genome shotgun seq	40.1	72.4	88%	0.13	100.00%	NZ_LLYZ01000002.1
☐	Maribacter arcticus strain DSM 23546, whole genome shotgun sequence	38.2	38.2	73%	0.53	100.00%	NZ_FUYL01000003.1
☐	Flavobacterium johnsoniae UW101, complete genome	38.2	247	100%	0.53	100.00%	NC_009441.1
☐	Beggiatoa leptomitiformis strain D-402 chromosome, complete genome	38.2	126	80%	0.53	100.00%	NZ_CP012373.1
☐	Leptolyngbya borviana dq5 DNA, complete genome, strain: dq5	38.2	38.2	73%	0.53	100.00%	NZ_AP014642.1
☐	Nostoc piscinale CENA21 genome	38.2	94.6	80%	0.53	100.00%	NZ_CP012036.1
☐	Pedobacter psychrophilus strain CCM 8644 NODE_8_length_156157_cov_126.772_ID_	36.2	36.2	69%	2.1	100.00%	NZ_LWHJ01000032.1
☐	Tolypothrix bouteillei VB521301 scaffold_2, whole genome shotgun sequence	36.2	64.4	73%	2.1	100.00%	NZ_JHEG02000058.1
☐	Leeuwenhoekiella blandensis MED217 scf_1099517004314, whole genome shotgun se	36.2	64.4	96%	2.1	95.45%	NZ_CH672395.1

A legjobb találat 100%-osan egyezik, ezért megvizsgáltam az eredeti, kapott szekvenciát is. Szintén 100%-osan illett és azonos találatra, vagyis a *clostridium tetani* baktériumra.

Ez egy anaerob baktérium, amely a fő kórokozója egy gyakran halállal végződő, leginkább izommozgató idegeket érintő, betegségnek. Spórái mindenütt előfordulnak az utca porában, vagy a kerti földben. Ha a spórák nyílt sebbe kerülnek, akkor a fertőzés bekövetkezett. Levegőtől, oxigéntől elzárt helyen a baktérium elszaporodik, és toxinokat termel, amik károsítják az izommozgató idegeket, ezzel bénulást és görcsöket okoznak, és károsítják a szívet is.