

UNIVERSIDAD DEL SURESTE

SAN CRISTÓBAL DE LAS CASAS CHIAPAS

MATERIA: BIOLOGÍA MOLECULAR

**DOCENTE: ING JOSE LUIS MORALES
MUÑOS**

ALUMNO: MARCOS GONZÁLEZ MORENO

SEMESTRE Y GRUPO: 4ªA

TEMA:

“ENZIMAS DE RESTRICCIÓN”

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Cuáles son las condiciones de almacén y conservación de las enzimas de restricción? Las enzimas de restricción, al igual que muchas otras proteínas, pueden disminuir su vida media y en consecuencia su actividad, al ser conservadas y manejadas de forma inadecuada fuera de su rango ideal de temperatura; deben conservarse a -20°C , así que para evitar su congelamiento y su consecuente pérdida de actividad son diluidas en un volumen determinado de glicerol. Para usarlas se requiere un contenedor que asegure la menor variación de temperatura posible.
2. ¿Cómo se determina la enzima de restricción ideal para realizar un corte en una secuencia específica de ADN? Los cortes que realizan las enzimas de restricción sobre la cadena de ADN pueden generar dos estructuras o formas: cohesivas o romas. Los cortes cohesivos, también llamados pegajosos, se generan porque la enzima corta en cada cadena de ADN entre nucleótidos localizados en posiciones diferentes respecto al eje de simetría de la secuencia de diana.
3. ¿Cómo se logra la mayor eficiencia en la actividad de las enzimas de restricción? Las hojas de instrucciones o insertos que facilita el proveedor incluyen las características y descripción de las condiciones óptimas de actividad de las enzimas de restricción disponibles comercialmente. Dichas condiciones están ajustadas para el volumen de reacción requerido, de acuerdo a la tecnología que se requiere aplicar. Se debe tener en cuenta la temperatura óptima de acción, presentación comercial de la enzima (unidades de enzima por microlitro), tiempo de incubación, así como los posibles requerimientos de aditivos, como albúmina, ATP, etcétera.
4. ¿Cómo se determina la cantidad de enzima de restricción para un ensayo? La cantidad de enzima utilizada en una reacción dependerá de la concentración de ADN en la muestra a digerir. La concentración de la enzima está descrita en la hoja de instrucciones del proveedor, como unidades por micro litro (u/ μl). Una unidad de enzima se define como la cantidad de enzima requerida para producir la digestión completa de un microgramo de ADN sustrato en 60 minutos a la temperatura óptima de acción de la enzima.
5. ¿Aumenta la eficiencia de la actividad de restricción si se rebasa el tiempo recomendado de incubación? El tiempo de incubación de la reacción puede ser incrementado si la enzima utilizada está cerca de su fecha de caducidad y su actividad está mermando. Sin embargo, el tiempo no debe incrementarse demasiado, pues, aunque el ADN es una molécula resistente, se corre el riesgo de su degradación.