

FOAIE DE RĂSPUNSURI

Laboratorul Nr. 1. BIOLOGIE MOLECULARĂ
Partea I.
DETERMINAREA SPECTROFOTOMETRICĂ A PURITĂȚII
ȘI CONCENTRAȚIEI ADN

1.1. Pentru realizarea diluării probei de ADN este necesar să parcurgeți un set de pași. Citiți cu atenție pașii propuși mai jos, ordonați-i în ordinea corectă ținând cont de eficacitatea acțiunilor realizate, înscriind în dreptul fiecărui pas cifra corespunzătoare ordinii acestuia, de la 1 la 8 (câte 0.5 p).

4p

Pași	Numărul de ordine
A. Adăugarea soluției care conține ADN în eprubetă.	
B. Înscrierea pe o etichetă a notației 2.n unde n este numărul mesei la care lucrați. De exemplu 2.2.	
C. Adăugarea H ₂ O deionizată, fără nucleaze în eprubetă.	
D. Amestecarea prin pipetare sau prin agitare mecanică a conținutului eprubetei.	
E. Plasarea eprubetei în suport.	
F. Etichetarea unei eprubete Eppendorf curate.	
G. Deschiderea capacului eprubetei.	
H. Închiderea capacului eprubetei.	

1.2. Imaginați-vă următoarea situație: Dvs. ați realizat o cercetare spectrofotometrică a purității și concentrației unei soluții de ADN având în calitate de probă cercetată 100 μl ADN genomic vegetal. Au fost obținute datele din tabelul de mai jos. Înainte de a determina absorbanta la diferite lungimi de undă soluția inițială de ADN a fost diluată de 50 de ori.

λ , nm	Măsurare nr.1	Măsurare nr.2	Măsurare nr.3	Valoarea medie, u.a.
230	0,407	0,398	0,394	0,400
260	1,205	1,307	1,220	1,244
280	0,753	0,763	0,817	0,777

A. Completați tabelul de mai jos, înscriind în spațiul rezervat semnele + dacă sunteți de acord cu afirmația și – dacă nu sunteți de acord cu ea:

3p

Afirmația	Constatare
Proba este contaminată semnificativ cu proteine.	
Proba este contaminată cu ARN.	
Proba este contaminată cu polizaharide.	

1.3. Corelați scopul urmărit din coloana A cu metodele din coloana B. Înscrieți literele în dreptul cifrelor în spațiul rezervat din fața colanei A: 4p

A. Scop		B. Metode	
_____	1. Obținerea unui raport A260/A280 mai mic de 2,0	a.	Adăugarea la extract proteinazei K, urmată de precipitarea și purificarea cu etanol
_____	2. Obținerea unui raport A260/A280 mai mare de 1,7	b.	Adăugarea la extract ARNazei A, urmată de precipitarea și purificarea cu etanol
_____	3. Obținerea unui raport A260/A230 mai mare de 2	c.	Tratament cu amestec cloroform:alcool izoamilic, urmat de precipitare cu etanol
		d.	Precipitare repetată cu etanol pur cu adăugare de NaCl în concentrație de 0,5M

1.4. Analizați afirmațiile de mai jos. Notați în tabel litera A dacă considerați afirmația Adevărată și F dacă considerați afirmația Falsă. 3p

Afirmație	A/F
Prezența ADN fragmentat în proba analizată poate fi determinată doar prin măsurarea absorbanței la 220 nm.	
Cea mai bună metodă de inactivare a enzimelor utilizate post extracție ADN este incubarea soluției la temperatura de 70° C	
O cantitate de 50 ng ADN în 50 μl volum reacție este suficientă pentru realizarea reacției PCR.	

**Partea II.
ESTIMAREA A PURITĂȚII ȘI CONCENTRAȚIEI ADN PRIN ELECTROFOREZĂ**

1.5. Încărcați soluția de ADN colorată în gelul de agaroză. Solicitați asistentului de laborator să semneze în tabelul de mai jos. 5p

Punctaj total, 5p	Punctaj parțial, 2,5p

1.6. Electroforeza ADN genomic decurge timp de aproximativ o oră. La această lucrare nu veți reuși să analizați ADN din proba Dvs. Analizați imaginile electroforezei în gel de agaroză de 1 % a ADN genomic realizate anterior lucrării. Notați A în dreptul afirmațiilor considerate corecte și F - false. 12p

Nr.	Afirmația	A/F
1	În imaginea Ia este prezentat ADN genomic.	
2	În imaginea Ia ADN cercetat este puternic fragmentat	
3	În imaginea Ib ar putea fi prezentat ADN plasmidian.	
4	În imaginea Ia toate mostrele de ADN cercetate au aceeași concentrație.	
5	În imaginea Ib ar putea fi prezentat ARN total extras printr-o metodă specială.	
6	În imaginea Ia sunt vizualizate urme de contaminare a ADN cu proteine.	

