

ЛИСТ ОТВЕТОВ

Лаборатория №. 1. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ
Часть I.
СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСТОТЫ
И КОНЦЕНТРАЦИЯ ДНК

1.1. Чтобы выполнить разведение образца ДНК, необходимо пройти ряд шагов. Внимательно прочитайте предложенные ниже шаги, расположите их в правильном порядке с учетом эффективности предпринятых действий, написав рядом с каждым шагом цифру, соответствующую его порядку, от 1 до 8 (по 0,5 б). 46

Шаги	Порядковый номер
А. Добавление раствора, содержащего ДНК, в пробирку.	
В. Написание на этикетке обозначения 2.п, где п — номер стола за которым вы работаете. Например 2.2.	
С. Добавление в пробирку деионизированной, не содержащей нуклеазы H ₂ O.	
Д. Смешивание содержимого пробирки путем пипетирования или механического перемешивания.	
Е. Установка пробирки в подставку.	
Ф. Маркировка чистой пробирки Эппендорфа.	
Г. Открытие крышки пробирки.	
Н. Закрытие крышки пробирки.	

1.2. Представьте себе следующую ситуацию: Вы провели спектрофотометрическое исследование чистоты и концентрации раствора ДНК, используя в качестве исследуемого образца 100 мкл геномной ДНК растения. Были получены данные представленные в таблице. Перед определением оптической плотности на разных длинах волн исходный раствор ДНК разбавляли в 50 раз.

λ , нм	Измерение no. 1	Измерение no. 1	Измерение no.1	Среднее значение, и.а.
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

А. Заполните приведенную ниже таблицу, поставив знак + в отведенном для этого месте, если вы согласны с утверждением и – если вы с ним не согласны: 36

Утверждение	Констатация
Образец значительно загрязнен белком.	
Образец загрязнен РНК.	
Образец загрязнен полисахаридами.	

1.3. Сопоставьте цель в столбце А с методами в столбце В. Напишите буквы рядом с цифрами в месте перед столбцом А: 46

А. Цель	В. Метод
_____ 1. Достижение соотношения A260/A280 менее 2,0.	a. Добавление протеиназы К к экстракту с последующим осаждением этанолом и очисткой.
_____ 2. Достижение соотношения A260/A280 выше 1,7.	b. Добавление РНКазы А к экстракту с последующим осаждением этанолом и очисткой.
_____ 3. Получение соотношения A260/A230 больше 2.	c. Обработка смесью хлороформ:изоамиловый спирт с последующим осаждением этанолом.
	d. Повторное осаждение чистым этанолом с добавлением 0,5 М NaCl.

1.4. Проанализируйте приведенные ниже утверждения. Отметьте в таблице букву А, если вы считаете утверждение верным, и букву F, если считаете утверждение ложным. 36

Утверждение	А/Ф
Наличие фрагментированной ДНК в анализируемом образце можно определить только путем измерения оптической плотности при 220 нм.	
Лучший метод инактивации ферментов, используемых после экстракции ДНК, — это инкубация раствора при 70°C.	
Для проведения ПЦР-реакции достаточно 50 нг ДНК в реакционном объеме 50 мкл.	

Часть II. ОЦЕНКА ЧИСТОТЫ И КОНЦЕНТРАЦИИ ДНК МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

1.5. Загрузите окрашенный раствор ДНК в агарозный гель. Попросите лаборанта расписаться в таблице. 56

Максимальный балл, 5 баллов	Частичный балл, 2,5 балла

1.6. Электрофорез геномной ДНК занимает около часа. В этой работе вы не успеете анализировать ДНК из вашего образца. Проанализируйте изображения электрофореза в 1% агарозном геле геномной ДНК, полученные ранее. Отметьте А рядом с утверждениями, которые считаете верными, а F – ложными. 126

Но.	Утверждение	А/Ф
1	Геномная ДНК показана на изображении Ia.	
2	На изображении Ia исследуемая ДНК сильно фрагментирована.	
3	Плазмидная ДНК может быть показана на изображении Ib.	
4	На изображении Ia все исследованные образцы ДНК имеют одинаковую концентрацию.	
5	Геномную РНК, выделенную специальным методом, можно увидеть на изображении Ib.	
6	На изображении If визуализируются следы загрязнения ДНК белками.	

