

Seminar 4.

Lecția 2 (II). ELEMENTE DE BAZĂ ALE TEHNOLOGIEI DE OBȚINERE A OMG

I. Întrebări cu unul sau mai multe răspunsuri corecte

1. Eco RII și Eco RV sunt sisteme derivate din:
2. Sunt mai multe modalități de vizualizare și documentare a rezultatelor restricției, însă, primar este necesar de efectuat:
3. Hibridizarea *Southern-blot* constă în:
4. Amplificarea ADN-ului prin metoda PCR se efectuează cu următoarele enzime:
5. Primerii sunt:
6. Taq-polimeraza este o enzimă izolată din:
7. În rezultatul reacției PCR are loc amplificarea secvențelor de ADN:
8. Componentele unei reacții PCR sunt:
9. Rezultatele unei reacții PCR cu primeri specifici sunt diferite de cele ale PCR cu primeri nespecifici (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) prin faptul că:

II. Adevărat/fals

1. Există ER cu secvențe de recunoaștere degenerate. De exemplu, HinfI recunoaște 5'GANTC3', unde N este orice nucleotid. A F
2. Eco RI reprezintă enzima izolată din *Escherichia coli*, tulpina I, enzima R. AF
3. Bromura de etidiu se caracterizează printr-o sensibilitate de identificare de 10 ng de ADN. Este un mutagen puternic. AF
4. Dacă pentru o enzimă dată sunt n situsuri într-un segment ADN, atunci numărul fragmentelor obținute va fi $n+5$. A F
5. Rezultatele restricției enzimatice (genotipare RFLP) pot fi utilizate în obținerea hărților genetice a cromozomilor. AF
6. Principiul tehnic al PCR prezintă cicluri de creștere/ scădere a temperaturii care au loc doar la începutul reacției în scop de renaturare și sinteză a ADN. A F
7. Fragmentul de ADN de interes poate fi decupat din gel, purificat și analizat în continuare pentru clonare, secvențiere etc. A F

8. Cerința de bază pentru a realiza hibridizarea *Southern-blot* - cel puțin o parte din secvența de ADN de interes să fie cunoscută sau prezisă prin metode bioinformatiche

A F

9. În etapa 1 a PCR se obțin copii ale ADN țintă. Aceste produse de amplificare au extremități 5' identice și extremități 3' aleatoare, reprezentând poziții în care sinteza ADN se termină întâmplător.

A F

10. Sinteza AND se poate realiza prin tehnica PCR cu primeri specifici și arbitrari.

A F

III. Completarea spațiilor

1. Aproape 4000 de ER de tip II au fost izolate și peste 600 sunt utilizate în laborator. Multe ER au situsuri țintă _____, dar pot recunoaște _____.

2. ER sunt notate printr-un acronim format _____, din care prima reprezintă _____, iar următoarele, _____ la care s-a identificat enzima. Acest acronim poate fi urmat de _____, care semnifică _____ din care s-a izolat ER, și respectiv _____ identificate la specia dată.

3. ER pot fi utilizate în diferite _____, _____ și combinații _____, rezultând mai multe fragmente care ulterior sunt separate prin _____ în gel.

4. Tehnica *Southern-blot* constă din următoarele etape:

- (1) _____;
- (2) _____;
- (3) _____;
- (4) _____;
- (5) _____;
- (6) _____;
- (7) _____;
- (8) _____.

5. Fragmentele _____ obținute prin digestia enzimatică a ADN-lui au _____ în funcție de numărul _____ și reprezintă materialul inițial în obținerea _____.

6. PCR este o altă metodă de _____ ADN. Sinteza _____ a diferitor fragmente de ADN este posibilă prin utilizarea _____, a unor secvențe nucleotidice scurte numite _____, a _____ și a altor componente moleculare.

7. După 30 de cicluri PCR se obțin 130 de milioane de ampliconi derivați din fiecare moleculă de pornire. Astfel, se obțin _____ din câteva _____ de ADN țintă.