

Seminar 5.

Lecția 2 (III). ELEMENTE DE BAZĂ ALE TEHNOLOGIEI DE OBTINERE A OMG

1. Întrebări cu unul sau mai multe răspunsuri corecte

1. Procesul de obținere a ADNc din ARNm se numește:
2. Enzimele utilizate în obținerea moleculei de ADN recombinant sunt:
3. Clonarea ADN *in vivo* constă în:
4. O bibliotecă genomică constituie:
5. Când sunt utilizate ER care generează capete trunchiate, sau când este necesar de clonat ADNc, la ADN-ul de interes sunt:
6. Vectorii utilizați în tehnologia ADN recombinant trebuie să corespundă următoarelor cerințe:
7. Plasmide sunt molecule:
8. Prezența plasmidelor în bacterii:
9. Plasmidele posedă:
10. O bibliotecă de gene cromozomială:
11. Primii vectori care au fost utilizați în analiza genomurilor complexe sunt:
12. Vectorii cu capacitate înaltă utilizați în clonare sunt:
13. Capacitatea de clonare a plasmidelor constituie:
14. Capacitatea de clonare a vectorilor de inserție proiectați în baza bacteriofagului λ constituie:
15. Capacitatea de clonare a cromozomilor artificiali bacterieni (BAC) constituie:
16. Capacitatea de clonare a cosmidelor constituie:
17. O bibliotecă de ADNc constituie:

Adevărat/fals

1. Prin transcripție inversă se obțin polimeri de hidrați de carbon A F
2. Prin sinteza copiilor ADN de pe ARNm se obține ARNc A F
3. În reacții de transcripție inversă se poate efectua tratarea cu DNază pentru a evita contaminarea cu ADN. A F
4. ADNc poate fi folosit ca sonda de hibridare pentru a identifica potențiale rearanjări structurale ale unei gene A F
5. În general, 1 μ g ARN total este suficient pentru amplificarea ARNm/ADNc care este în 1-10 copii/celulă. A F

6. În reacția de reverstranscriere se poate utiliza primeri oligo(dT) în combinație cu un primer antisens/revers specific, care urmează a fi utilizat ulterior și în reacția PCR. A F
7. În reacția de clonare se utilizează un colorant SYBR Green care emite un semnal fluorescent atunci când se leagă de ADN bicatenar. Intensitatea semnalului fluorescent indică conținutul produsului sintetizat. A F
8. Ligaza este una din enzimele utilizate în obținerea ADN-lui recombinat A F
9. Pentru obținerea bibliotecilor de gene prin tehnica de clonare care implică vectori de clonare, sunt necesare mai multe zile, comparativ cu amplificarea in vitro PCR. A F
10. Obținerea unei biblioteci genomice este utilă pentru a identifica și izola o genă de interes prin screening cu sonde de hibridizare specifice. A F
11. Secvențele linker reprezintă secvențe de 8-16 nucleotide, auto-complementare, care conțin situsuri de recunoaștere pentru ARN polimeraze. A F
12. Cu cât este mai mic plasmidul, cu atât mai mic este numărul de copii per celulă. A F
13. Regiunea polilinker este creată astfel, încât să nu se rezume doar la situsuri multiple de clonare dar să reprezinte și o secvență continuă de codoni pentru a codifica o proteină. A F
14. În laborator, plasmidele sunt transferate în bacterii printr-un proces numit conjugare genetică. A F
15. Plasmidele sunt dependente de celula-gază. A F
16. Plasmide sunt molecule de ADN dublu catenare, liniare, capabile de autoreplicare dependentă și se întâlnesc la toate speciile de bacterii. A F
17. Plasmida, utilizată în calitate de vector, trebuie să fie de dimensiuni mici, replicarea să se afle sub un control redus din partea cromozomului bacterian și să conțină situsuri multiple pentru una sau mai multe enzime de restricție, aflate în regiuni esențiale pentru replicare. A F
18. În calitate de vectori cel mai des se utilizează plasmidele bacteriei *E. Coli.*, derivați ai bacteriofagilor λ și M13, cosmide, cromozomi artificiali de drojdie. A F
19. Varietatea de vectori este determinată de dimensiunea fragmentelor străine de ADN care pot fi inserate. A F
20. Bacteriofagul λ - fag lizogen cu genomul sub forma unei molecule de ADN dublu catenar, liniar, de aproximativ 48,500 pb, include cel puțin 30 de gene A F
21. Genomurile bacteriofagilor posedă origini de replicare din care cauză nu pot fi propagați în bacterii. A F
22. Vectorii plasmidici sunt proiectați și pentru levuri și ciuperci. Unii dintre aceștia au originea replicării din plasmida de 2 μ m prezentă în multe tulpini de *Saccharomyces cerevisiae*, dar alți vectori plasmidici pentru drojdie și ciuperci au doar o origine *E. coli*. A F
23. Nu există vectori care se pot replica în mai multe gazde. A F

3. Completarea spațiilor

1. Izolarea și ulterior clonarea poate începe și prin extragerea _____ din țesuturi în _____, în care gena „de interes” este _____.
2. Protocolul etnic este asemănător cu cel prevăzut pentru PCR pe matriță AND. Totodată sunt utilizate alte componente pentru mediul de reacție așa ca: _____ primeri hexameri aleatori
3. Când se analizează ARNm din organisme eucariote se recomandă ca primerii să fie derivați din _____, astfel se va evita obținerea _____, sintetizați de pe _____ (o posibilă contaminare), iar ampliconul (produsul rezultat în urma reacției PCR) obținut va fi cel prevăzut.
4. Clonarea este posibilă datorită _____ care clivează specific AND, precum și _____, care leagă fragmentele de restricție obținute din diferite surse _____, formând astfel _____.
5. Tehnica PCR permite amplificarea de _____ a unui fragment de _____ dintr-o anumită regiune a _____ doar în câteva _____.
6. ADNc, fiind sintetizat pe matrița moleculelor de _____, corespunde genelor active transcripțional. ADNc se deosebește de ADN genomic prin _____ intronilor și este identic cu secvența _____.
7. Spre deosebire de fragmentele de ADN obținute prin digestie cu ER, moleculele de ADNc nu au capete _____ . Astfel, pentru a fi introduse în _____, moleculelor de _____ li se adaugă secvențe _____ care conțin capete _____.
8. Obținerea unui plasmid recombinant capabil de transformare a bacteriei E.coli are loc printr-o reacție _____ între plasmida liniarizată și fragmentele de ADN cu capete coezive complementare vectorului, rezultând un hibrid molecular și o a doua reacție _____, prin care capetele coezive ale hibridului liniar se leagă formând o moleculă recombinată circulară.
9. Principiul testului de selecție Lac constă în: coloniile nerecombinante, ale căror celule sintetizează β -galactozidaza, _____. Coloniile cu gena lacZ' care conține un insert alogen _____, reacția chimică _____ și astfel acestea vor fi _____.
10. Pentru a majora numărul de situsuri de inserție, în plasmide se introduc anumite segmente de ADN care conțin mai multe situsuri aranjate succesiv pentru o gamă largă de restrictaze numite _____.
11. În laborator, plasmidele sunt transferate în bacterii printr-un proces artificial numit _____ care include incubarea plasmidelor cu _____.
12. Genomul fagic se circularizează prin împerecherea bazelor de la nivelul extremităților monocatenare complementare, numite _____, sau _____ (12 nucleotide).
13. Cosmide sunt hibridi derivați din _____ (situsurile *cos*) și _____.
14. Plasmidele posedă o regiune notată _____, formată din _____ de perechi de nucleotide, esențială în replicare.
15. De la fagul de tip sălbatic au fost construiți vectori:
 - _____ (λ gt și λ ZAP), la care ADN-ul opțional este parțial sau total eliminat, a fost introdus un situs de restricție unic,
 - _____, conțin două situsuri de restricție ce flanchează fragmentul central care este înlocuit cu ADN străin.
16. În calitate de gazdă de clonare sunt utilizate:
 - _____ (pentru plasmide, cosmide, bacteriofagi, BAC)
 - _____ (pentru plasmide, YAC)
 - _____ (plasmide, virusuri)
 - _____ (virusuri)