

## **Теория**

### **1. Зачем нужны праймеры?**

- для предотвращения деградации фермента
- для нейтрализации побочных продуктов реакции
- для обеспечения оптимальных условий работы фермента
- для запуска копирования целевого фрагмента ДНК

### **2. Из каких основных стадий состоит ЦПР?**

- пурификация, инкубация, элонгация
- экстракция, пурификация, синтез
- экстракция, элонгация, инкубация
- денатурация, инкубация, элонгация
- денатурация, отжиг, элонгация

### **3. Почему выделение ДНК проводят в «грязном» помещении?**

- для исключения ложноотрицательных результатов
- для улучшения воспроизводимости результатов
- так делают в большинстве современных ПЦР-лабораторий
- согласно рекомендациям по устройству ПЦР-лабораторий
- для снижения риска получения ложноположительных результатов

### **4. Зачем требуется контролировать содержание остаточных белков продуцента в биотехнологических лекарственных препаратах?**

- это один из показателей при регистрации лекарственного препарата
- эти белки могут вызвать побочные реакции и потому регламентируются МинЗдравом
- этот показатель необходим для понимания правильно ли протекает технологический процесс
- это примесь, а их содержание всегда нужно контролировать
- контроль этого показателя не всегда важен и выполняется по усмотрению производителя

### **5. Зачем требуется останавливать ферментативную реакцию?**

- для того, чтобы продемонстрировать разницу аналитических сигналов положительных и отрицательных контролей
- для построения калибровочной кривой
- для получения экспресс-результатов, с целью сэкономить время
- для получения аналитических сигналов, коррелирующих с концентрацией аналита

### **6. Какая манипуляция ИФА является самой часто повторяющейся и от тщательности которой зависят получаемые результаты?**

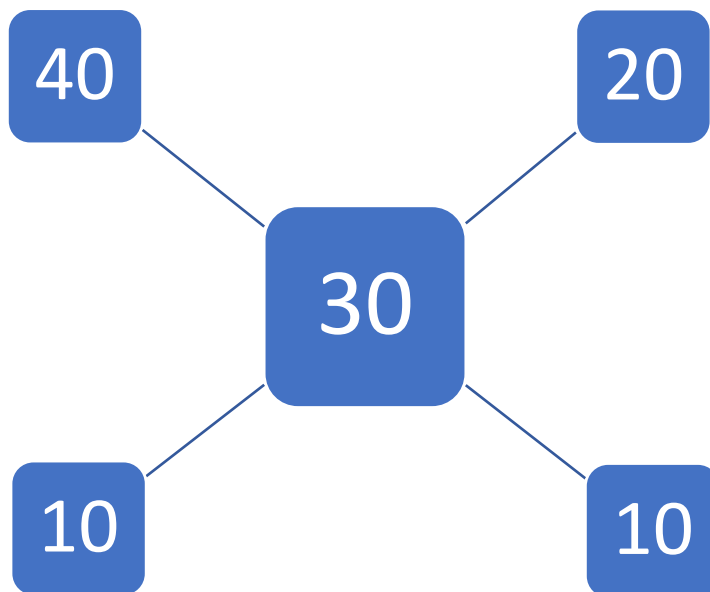
- сканирование планшета
- заклеивание планшета адгезивной плёнкой
- подготовка растворов
- промывание лунок планшета
- прогревание растворов и планшета

**Практика****1. Опишите пошагово приготовление 0.5 М раствора трис(гидроксиметил)аминомета (pH 6.8)**Приготовление 0,5 М раствор трис(гидроксиметил)аминомета (pH 6.8):

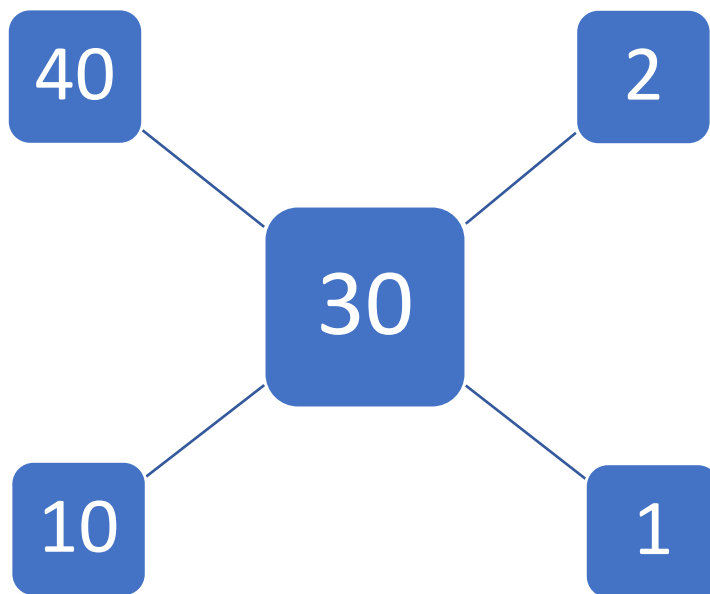
1. На лабораторных весах взвешиваем навеску трис(гидроксиметил)аминомета (Трис(гидроксиметил)аминометан гидрохлорид, хч) массой 60,57 г;
2. Помещаем навеску в химический стакан нужного объёма (в данном случае расчёт ведётся на литр конечного раствора). Подписываем стакан: «Название буфера. Дата приготовления»;
3. Помещаем магнитную мешалку в стакан;
4. Добавляем 800-900 мл очищенной воды;
5. Ставим стакан на электрическую мешалку;
6. Опускаем электрод pH метра в раствор. Проверяем значение;
7. По капле добавляем пипеткой Пастера раствор соляной кислоты, проверяя pH по мере добавления. Доводим до нужного значения (pH 6.8);
8. Доводим объём раствора до нужного значения (1 литр) очищенной водой;
9. Обязательно перепроверяем pH: в случае, если значения завышенное (pH > 6.8), то необходимо скорректировать той же кислотой.

Примечание: Расчёт массы навески:

<u>Дано:</u>	<u>Расчёт</u>
$V_{buffer} = 1 \text{ (литр)}$ $M_{TRIS} = 121.14 \left( \frac{\text{г}}{\text{моль}} \right)$ $c = 0,5 \text{ M}$	$m_{\text{навески}} = c \cdot V_{buffer} \cdot M_{TRIS} = 0,5 \text{ M} \cdot 1 \text{ (л)} \cdot 121.14 \left( \frac{\text{г}}{\text{моль}} \right)$ $= 60,57 \text{ г}$

**2. Как из двух растворов натрия хлорида 40 % и 10 %, приготовить 30 % раствор натрия хлорида?**

Далее, идя по диагонали креста, вычитаем из большего меньшее значение концентрации и получаем массовые соотношения. Полученные числа сокращаем.



Массовые соотношения показывают, что для приготовления 30% -ного раствора надо взять 2 части 40%-ного раствора и 1 часть 10 процентного раствора, т.е. смешать имеющиеся растворы в массовом соотношении 2:1.

**3. Для постановки ПЦР требуется концентрация зонда 300 нМ на реакцию. Какой объем исходного раствора зонда с концентрацией 100 пмоль/мкл потребуется на одну реакцию в объеме 25 мкл? Какой объем потребуется для 96 реакций?**

<u>Дано:</u>	<u>Решение:</u>
$N_{\text{на реакцию}} = 300 \text{ нМ} = 300 \cdot 10^3 \text{ пМ};$ $C_{\text{исх}} = 100 \text{ пмоль/мкл};$ $n_{\text{реакций}} = 96;$ Объем реакционной смеси $V_{\text{реак}} = 25 \text{ мкл}.$	Объем исходного раствора на 1-у реакцию: $V_{\text{исх } 1} = \frac{N_{\text{на реакцию}}}{C_{\text{исх}}} = \frac{300 \cdot 10^3 \text{ пМ}}{100 \left( \frac{\text{пмоль}}{\text{мкл}} \right)}$ $= 3000 \text{ мкл} = 3 \text{ мл}$
$V_{\text{исх}} - ?$ $V_{96 \text{ р-ций}} - ?$	Соответственно, данный объем не укладывается в объем реакционной смеси (25 мкл), поэтому следует взять более концентрированный стоковый раствор зонда. Объем исходного раствора на 96 реакций: $V_{\text{исх}} = V_{\text{исх } 1} \cdot 96 = 3 \text{ (мл)} \cdot 96 = 288 \text{ (мл)}$
<u>Ответ:</u>	$V_{\text{исх}} = 3 \text{ мл}$ (следует взять более концентрированный стоковый раствор зонда). $V_{96 \text{ р-ций}} = 288 \text{ (мл)}.$

**4. Для детекции при постановке ИФА антитело с ферментной метку требуется развести 1 : 25000. Какова будет концентрация антитела с ферментной меткой в рабочем растворе, если его концентрация в исходном растворе составляет 1,47 мг/мл?**

<u>Дано:</u>	<u>Решение:</u>
--------------	-----------------

Тестовые задания для стажера

Рабочее разведение конъюгата: 1 : 25000; Исходная концентрация: $c_{исх} = 1,47$ мг/мл.	Соотношение компонентов рабочего раствора: 1 (конц. конъюгата) : 25000 (растворитель).
Рассчитать концентрацию антитела с ферментной меткой в рабочем растворе.	Следовательно, концентрация в рабочем разведении будет меньше в 25000 раз: $c_p = \frac{1,47 \left( \frac{\text{мг}}{\text{мл}} \right)}{25000} = 0,0000588 \left( \frac{\text{мг}}{\text{мл}} \right)$ $= 0,0588 \left( \frac{\text{мкг}}{\text{мл}} \right) = 58,8 \left( \frac{\text{нг}}{\text{мл}} \right)$
Ответ:	$c_p = 0,0588$ (мкг/мл)