

**ТЕСТОВОЕ ЗАДАНИЕ НА СТАЖИРОВКУ**

**Зачем нужны праймеры?**

- для предотвращения деградации фермента

- для нейтрализации побочных продуктов реакции

- для обеспечения оптимальных условий работы фермента

- для запуска копирования целевого фрагмента ДНК

Пояснение: Праймер используется в качестве затравки для синтеза комплементарной цепи с помощью ДНК-полимеразы (Taq-полимераза от Thermus aquaticus). Затравка же нужна полимеразе для инициации синтеза новой цепи начиная с 3’-конца.

**Из каких основных стадий состоит ЦПР?**

- пурификация, инкубаци, элонгация

- экстракция, пурификация, синтез

- экстракция, элонгация, инкубация

- денатурация, инкубация, элонгация

- денатурация, отжиг, элонгация

Пояснение: как правило, цикл Цепной Полимеразной Реакции состоит из стадий:

1. «Плавления» (денатурации) ДНК. В этом случае при высокой температуре (~95 ֯С) двуцепочечная молекула «расшивается» в одноцепочечное состояние.
2. «Отжиг» праймеров. Температура отжига ниже, чем «плавления», и зависит от состава прймеров, поэтому её выбирают на 5 градусов ниже, чем температуру плавления самих праймеров, причем рекомендуется применять праймеры устойчивые к температурным нагрузкам с Tплавления> 60 ֯С, а отжиг и элонгацию проводить одновременно при температуре 60-72 ֯С.
3. Элонгация и удлинение цепи.

**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

Пояснение: Согласно Методическим указаниям МУ 1.3.1794-03. Из их области применения: «1.2. Методические указания определяют принципы организации лабораторий и этапы выполнения ПЦР-анализа: взятие проб, первичная обработка, хранение, условия транспортирования, обеззараживание материала, выделение нуклеиновых кислот, проведение ПЦР (ОТ-ПЦР), учет и регистрация результатов при исследовании биологического материала, пищевых продуктов, материала из объектов окружающей среды». Из раздела 5 Требований к помещению и оборудованию ПЦР-лабораторий: «Комнату выделения НК располагают вблизи от комнаты приема материала, а помещение для учета результатов - по возможности в отдалении от других перечисленных помещений для обеспечения условий, исключающих занос в них продуктов амплификации (ампликонов) с воздушным потоком». В приложении 1 к нормативному документу указывается схема размещения помещений лаборатории. Поэтому правильным ответом является, во-первых, «Согласно рекомендациям по устройству ПЦР-лабораторий», согласно области применения методических указаний, а также «Для снижения риска получения ложноположительных результатов», согласно разделу 5.

**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 показатель не всегда важен и выполняется по усмотрения производителя

Пояснение: Во-первых, эти белки могут вызвать побочные реакции (в частности, потенциальная иммуногенность) и их количество регламентируется:

* «Наличие в любых рекомбинантных белках таких примесей требует изучения потенциальной иммуногенности препарата. По этой причине в настоящее время необходимо контролировать содержание остаточных белков клетки-хозяина на этапе очистки нерасфасованного препарата с помощью подходящих методов анализа».

[3. Остаточные белки клетки-хозяина // Фармакопея РФ URL: https://pharmacopoeia.ru/glava-7-primesi-dnk-i-belkov-kletki-hozyaina-standartnye-ispytaniya-v-sravnenii-s-validatsionnymi-issledovaniyami/ (дата обращения: 01.11.2020).]

* «При валидации производственного процесса следует документировать:

— удаление или снижение содержания ДНК штамма-продуцента и белков клетки хозяина до установленных пределов в конечном продукте;» [ОФС.1.7.1.0007.15]

Во-вторых, это примесь и её нужно контролировать (согласно тем же источникам).

**Зачем требуется останавливаться 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

Пояснение: Если ферментативную реакцию не остановить, то не будет видно разницы в положительных и отрицательных контролях.

**Какая манипуляция ИФА является самой часто повторяющийся и от тщательности которой зависят получаемые результаты?**

- Сканирование планшета

- Заклеивание планшета адгезивной плёнкой

- Подготовка растворов

- Промывание лунок планшета

- Прогревание растворов и планшета

Пояснение: Если лунки плохо промыть, то в лунках могут остаться некоторые непрореагировавшие компоненты реакционной смеси для ИФА, которые могут привести к неправильному результату.