

【背景问题】

通过预习本单元实验原理和技术，回答下列问题：

1. 从口腔上皮细胞提取基因组 DNA 做性别鉴定的依据是什么？

♀: XX ♂: XY

特异性扩增Y染色体上一段Y DNA片段，以及作为对照的Alu基因

有Y特异片段 → ♂，没有 → ♀

2. 简述各步 PCR 循环温度的意义。

95℃ 变性，55℃ 退火，72℃ 延伸

使模板双链分离

使模板链与引物结合

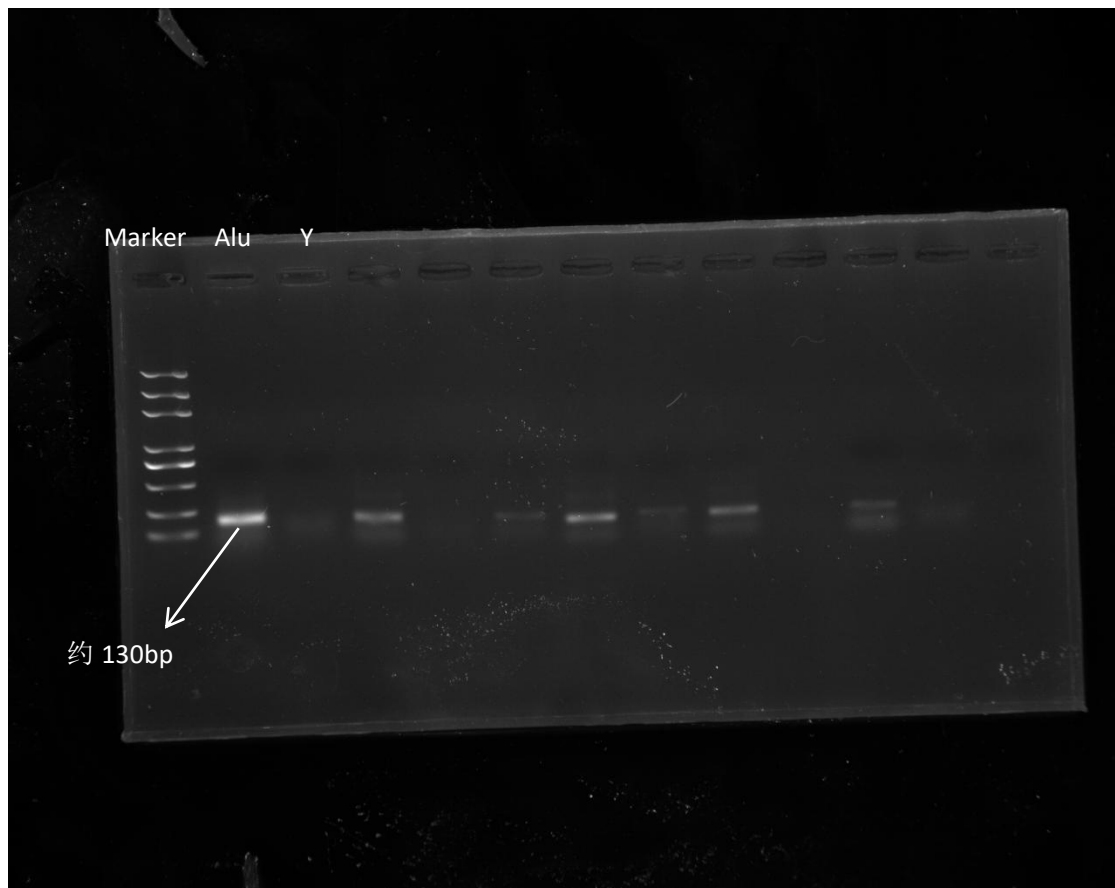
Taq酶最适温度，催化合成DNA

3. DNA 分子在电场中的移动方向和所带电荷有关，请推测一下在琼脂糖凝胶电泳中，DNA 的移动方向是由正极向负极运动，还是相反？为什么？

负极向正极移动

DNA 富含负电荷，在电场中向正极移动
(磷酸根)

【结果】



【讨论】

1. 根据你的电泳胶图来看, 是否扩增到的目的基因? 片段大小多少? 结合自己的性别说明一下实验结果。上样量 $20\mu\text{L}$

扩增到目的条带 Alu , 大小为 130bp , 性别男

Alu 目的条带前端及泳道有浅条带, 由于片段小, 且引物量过大, 推测该条带为引物二聚体 (其他同学也都有)

2. 如果没有扩增出预期条带或者扩增出非特异性条带, 分析可能的导致原因并阐述解决措施。

没有预期条带: ①加错/漏加模板或引物 ②buffer 没有提供合适的反应环境
③Taq 酶失活 ④引物设计不合理, 引物降解/模板降解

非特异: ①酶过多、模板纯度低 ② dNTP 、 $[\text{Mg}^{2+}]$ 过高, 退火温度过低
③循环次数过多 ④引物二聚体, 引物浓度不合适

【知识点回顾】

1. PCR 反应体系中一般会包含哪些成分? 它们分别起什么作用?

模板、引物、 dNTP 、DNA 聚合酶、 Mg^{2+} 、缓冲液
DNA 合成原料 \downarrow 催化 DNA 反应 \downarrow DNA 聚合酶的活性需要 Mg^{2+} 催化 \swarrow 提供适宜的反应环境

2. 简述分子量 Marker 在电泳中所起的作用?

①标定分子量, 可以根据 marker 计算样品的分子量

②可以通过 marker 跑出的质量判断异常结果产生的原因 (Marker 没问题说明电泳正常, 问题大概率发生在其他步骤)

【应用与拓展】

PCR 技术是生物科学技术史上一项伟大的发明, 极大地推动了分子生物学和其它生命科学研究的发展。在传统 PCR 的基础上, 科学家们先后开发出更多的新型 PCR 技术, 比如 RT-PCR、荧光定量 PCR 等, 试列举说明 2 项衍生 PCR 技术及其应用:

RT-PCR: 分析 RNA 水平, 获得 cDNA

qPCR: mRNA、miRNA 等的检测

TALL-PCR: 染色体步移技术