

**Kolokvij pri predmetu GENETIKA za študente 2. letnika biologije (BSc)**

Ime in priimek:

Datum:

Vpisna številka:

Nečitljivo napisanih kolokvijev ne popravljam!

1. Kaj je GSO (gensko spremenjen organizem)? Kako se pripravi npr. GSO koruza, ki je odporna proti nekemu herbicidu X? (2 točki)

2. Kaj pomeni, da je nek sev avksotrofen za aminokislini arginin in histidin? Kako bi v laboratoriju z UV-mutagenezo pripravili tak sev iz izhodiščnega prototrofnega seva? (1+3 točke)

7-198  
7-50,0  
7-701,0

3. Kakšno selekcijsko gojišče bi izbrali za sledečo konjugacijo:  
(1,5 točke)

donor: CL339 *arg-1 leuB proC/pSM23 proBC* ile Amp<sup>r</sup>

recipient: CL67 *proB*

Selekcijsko gojišče:.....

4. Opišite oba principa izolacije plazmidne DNA! (3 točke)

5. a. Koliko posameznih sestavin morate zatehtati za pripravo 890 ml pufra STE ?  
(4,5 točk; 3x1,5)

STE: 15 mM Tris-Cl; pH 7.5	molska masa: 157,6 gr/mol :	<u>2,1 g</u>
12 mM NaCl	molska masa: 58,44 gr/mol :	<u>0,62 g</u>
0.5 mM EDTA	molska masa: 372,2 gr/mol :	<u>0,165 g</u>

- b. Pripraviti želite 30 ml 1.9% agaroznega gela v 0.5 x pufri TBE za agarozno gelsko elektroforezo. Vaša izhodiščna raztopina pufra TBE je 10 x (koncentrirana).

Za pripravo gela moramo zatehtati \_\_\_\_\_ gr agaroze, dodati \_\_\_\_\_ ml 10 x TBE in \_\_\_\_\_ ml destilirane vode.

- c. Koncentracija pripravljene založne raztopine encima RNA-za je 10 mg/ml. Za pripravo 0,5 ml pufra TE z RNA-zo (končna koncentracija RNA-ze v pufri TE je 50  $\mu$ g/ml) potrebujete \_\_\_\_\_  $\mu$ l založne raztopine RNA-ze in \_\_\_\_\_ ml pufra TE.

6. Kako bi določili količino (obe metodi) in čistost izolirane plazmidne oziroma kromosomske DNA? (3 točke)

7. Razložite, kaj je konjugacija in kakšne vrste konjugacij poznamo ter pomen konjugacije v našem vsakdanjem življenju! (3 točke)

8. V sledečem zaporedju nukleotidov poiščite vsaj eno možno spoznavno zaporedje za delovanje restrikcijske endonukleaze iz II. razreda! (1 točka)

AAAACGTCCCCAATGAATTCCTGTTTAAAGTACTTCCGGACACGTCTT

9. Kaj so delne restrikcije in kdaj jih uporabljamo? (2 točki)

10. Navedite in na kratko opišite tri vektorje za kloniranje! (3 točke)

11. Kaj so genomske knjižnice, kako jih pripravite in kako poiščete pravi klon iz genomske knjižnice? (3 točke)

12. Z verižno reakcijo s polimerazo želite pomnožiti gen *qepA*. Katera **dva začetna oligonukleotida** boste izbrali za reakcijo pomnoževanja. (2 točki)

GTTAGTACGCGTGACGGACATTGGGATCGAGAT.....*qepA*.....ATGCCAGCATGACTGACCTGAACGCGTGTGCAGTG

1. P: 5'- ATGCCAGCATGACTGACCTGAACGCGTGT-3'
2. P: 5'- TAGTACGCGTGACGGACATTGGGATCGAGA-3'
3. P: 5'- GTGACGTGTGCGCAAGTCCAGTCAGTACGAC-3'
4. P: 5'- TGCACACGCGTTCAGGTCAGTCATGCTGGCA-3'

13. Ugotavljanje titra bakteriofaga in frekvence transdukcije: vaše dobljene fagne lizate ste razredčili v epruvetah  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  in  $10^{-9}$ . K indikatorski bakterijski kulturi v mehkem agarju ste dodali po 100  $\mu$ l posameznega razredčenega fagnega lizata in vsebino razlili preko plošče hranilnega agarja. Po 24-urni inkubaciji pri 37°C ste prešteli plake. Na plošči, kamor ste vlili mehki agar z dodano indikatorsko kulturo in 0,1 ml do  $10^{-7}$  razredčenega fagnega lizata ste prešteli 787 pfu, na plošči kamor ste vlili mehki agar z dodano indikatorsko kulturo in 0,1 ml do  $10^{-8}$  razredčenega fagnega lizata ste prešteli 65 pfu in na plošči kamor ste vlili

mehki agar z dodano indikatorsko kulturo in 0,1 ml do  $10^{-9}$  razredčenega fagnega lizata ste prešteli 5 pfu. Kakšen je titer fagov v vašem fagnem lizatu? (Izračunajte »navadno« povprečje)

Titer fagov je:..... (2 točki)

Kakšna bi bila frekvenca transdukcije za gen xyz, če bi ta fagni lizat uporabili za transdukcijo gena xyz in bi prešteli na ploščah s selekcijskim gojiščem za transduktante v povprečju 56 transduktant/ml transduksijske mešanice?

Frekvenca transdukcije:.....( 1 točka)

14. Kaj je: (2 točki)

alkalna fosfataza:.....

cDNA:.....

western blot:.....

biolistika:.....

15. PCR (verižna reakcija s polimerazo)

Opišite dogajanje v posamezni stopnji in pomen temperature! Navedite eno praktično aplikacijo metode PCR, s katero se srečujejo tudi nestrokovnjaki! (3 točke)



16. Kaj je sekvenciranje? Opišite dideoksi ali encimsko sekvenciranje po Sanger-ju!  
(2 točki)

17. Iz slike agaroznega gela po elektroforezi razberite: (2,5 točke)

v jamici 1 je.....DNA, v jamici 2 .....DNA,

v jamici 3 je .....DNA in v jamici 4 .....DNA.

(vstavite: izolirana plazmidna DNA, razrezana plazmidna DNA, razrezana genomna DNA, izolirana genomna DNA)

Velikost rekombinantnega plazmida v jamici 5 je .....bp.  
(Klonirano ~ pVC 19)

