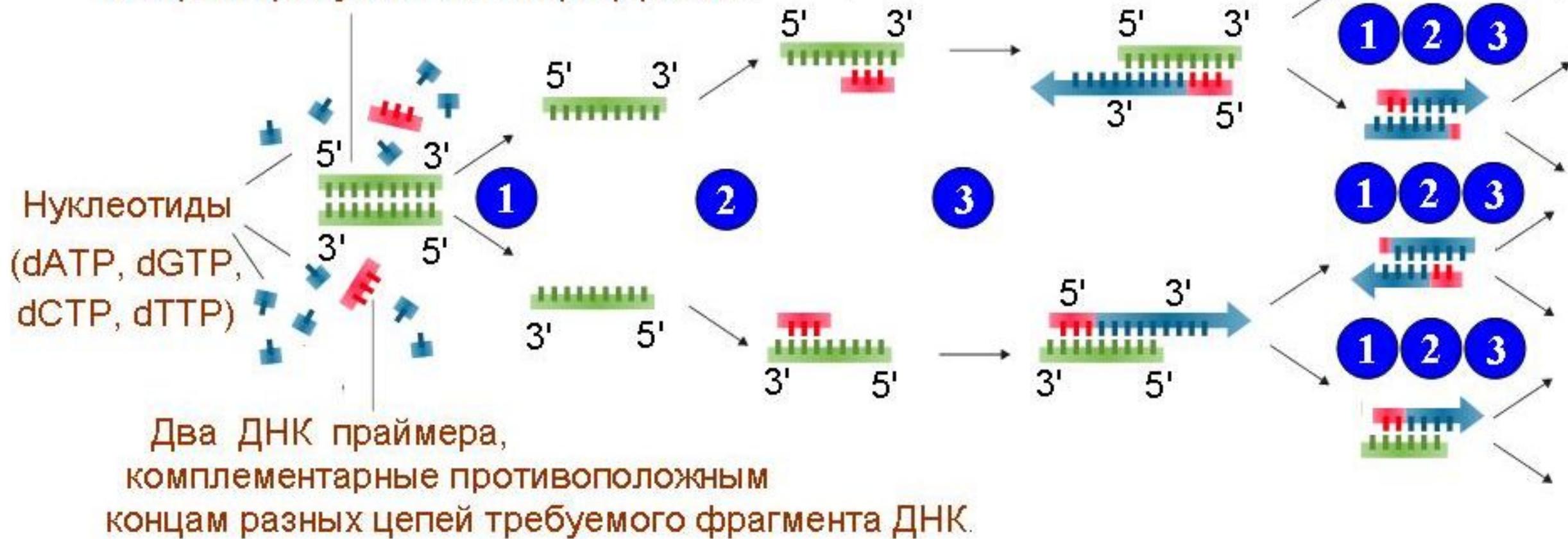


Problem-solving Test: Real-time Polymerase Chain Reaction



Полимеразная цепная реакция - ПЦР

ДНК-матрица, с участком ДНК,
который требуется амплифицировать



1 Денатурация при 94 - 96°C

2 Отжиг при ~ 68°C

3 Элонгация при 72°C

Цель опыта - сравнить количество гена HER2 в двух образцах ткани.

Реакционные смеси содержали:

ДНК-матрицу

Праймеры

Зонд TaqMan

Полимераза Taq

Дексорибонуклеозидтрифосфат

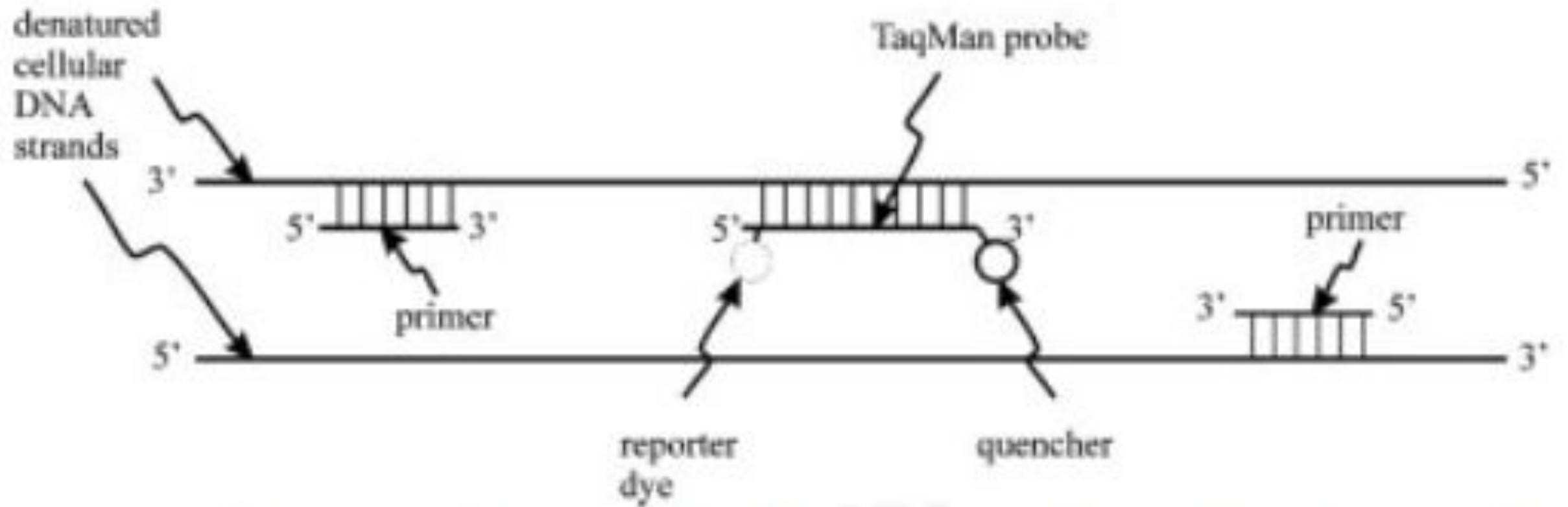


FIG. 1. The principle of TaqMan method (details in the text).

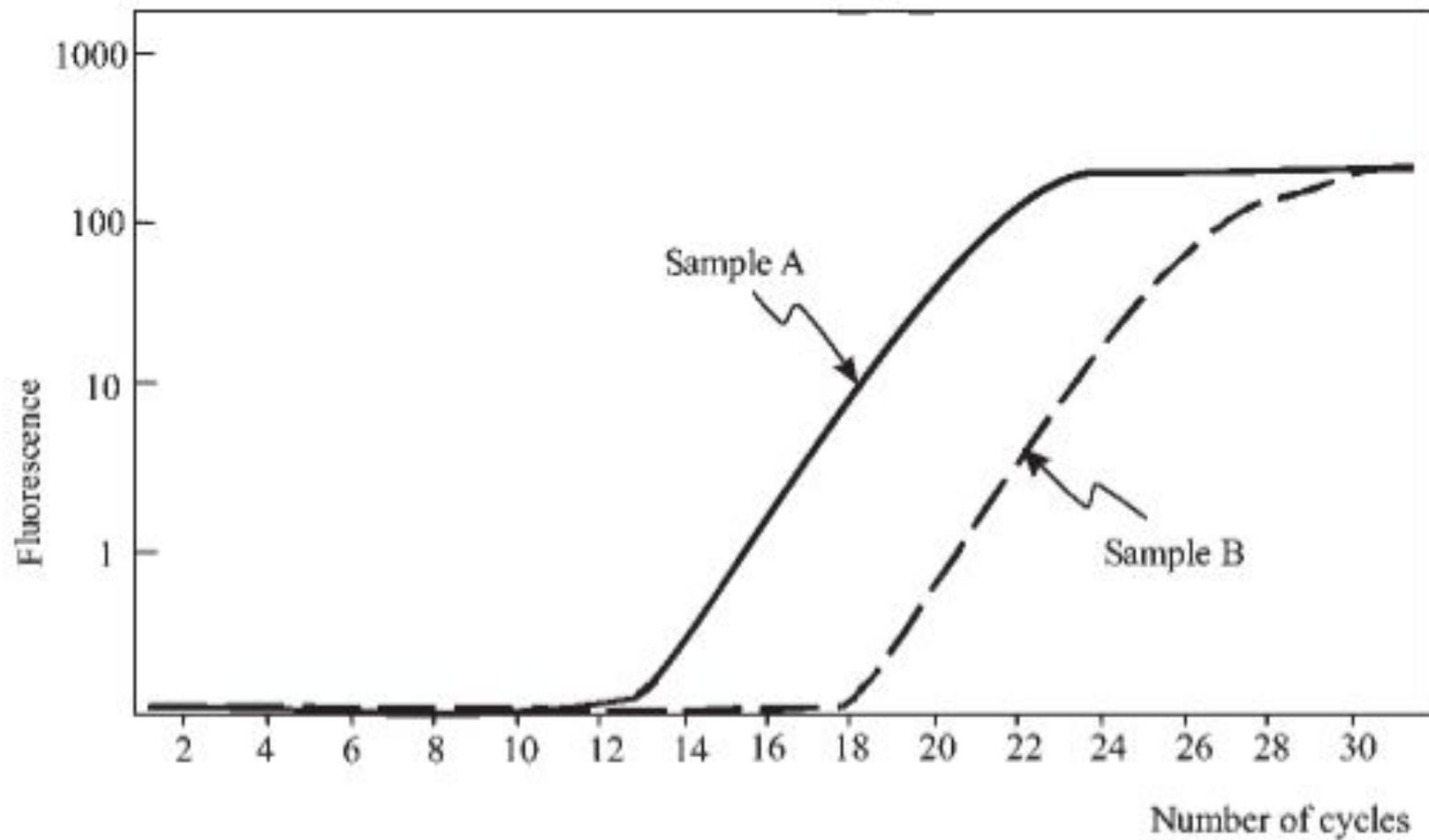


FIG. 2. Real-time PCR performed with a breast cancer (A) and a normal (B) genomic DNA sample from the same patient (details in the text).

Образует фосфодиэфирные связи.

- А. $5' \rightarrow 3'$ элонгационная активность Таq полимеразы
- В. $5' \rightarrow 3'$ экзонуклеазная активность Таq полимеразы
- С. Обе
- D. Ни одна из них

Образует фосфодиэфирные связи.

- A. 5'→3' элонгационная активность Taq полимеразы
- B. 5'→3' экзонуклеазная активность Taq полимеразы
- C. Обе
- D. Ни одна из них

Cleaves (разрезание)

- A. 5'→3' элонгационная активность Taq полимеразы
- B. 5'→3' экзонуклеазная активность Taq полимеразы
- C. Обе
- D. Ни одна из них

Cleaves (разрезание)

- A. $5' \rightarrow 3'$ элонгационная активность Taq полимеразы
- B. $5' \rightarrow 3'$ экзонуклеазная активность Taq полимеразы
- C. Обе
- D. Ни одна из них

Разрывает водородные связи.

- А. 5'→3' элонгационная активность Таq полимеразы
- В. 5'→3' экзонуклеазная активность Таq полимеразы
- С. Обе
- D. Ни одна из них

Разрывает водородные связи.

- А. 5'→3' элонгационная активность Таq полимеразы
- В. 5'→3' экзонуклеазная активность Таq полимеразы
- С. Обе
- Д. Ни одна из них

Зависит от праймера.

- А. $5' \rightarrow 3'$ элонгационная активность Таq полимеразы
- В. $5' \rightarrow 3'$ экзонуклеазная активность Таq полимеразы
- С. Обе
- D. Ни одна из них

Зависит от праймера.

- A. 5'→3' элонгационная активность Taq полимеразы
- B. 5'→3' экзонуклеазная активность Taq полимеразы
- C. Обе
- D. Ни одна из них

Разлагает праймеры на мононуклеотиды.

- А. $5' \rightarrow 3'$ элонгационная активность Таq полимеразы
- В. $5' \rightarrow 3'$ экзонуклеазная активность Таq полимеразы
- С. Обе
- D. Ни одна из них

Разлагает праймеры на мононуклеотиды.

- А. 5'→3' элонгационная активность Таq полимеразы
- В. 5'→3' экзонуклеазная активность Таq полимеразы
- С. Обе
- Д. Ни одна из них

Разлагает зонд TaqMan на мононуклеатиды

- А. 5'→3' элонгационная активность Taq полимеразы
- В. 5'→3' экзонуклеазная активность Taq полимеразы
- С. Обе
- D. Ни одна из них

Разлагает зонд TaqMan на мононуклеатиды

- А. $5' \rightarrow 3'$ элонгационная активность Taq полимеразы
- В. $5' \rightarrow 3'$ экзонуклеазная активность Taq полимеразы
- С. Обе
- D. Ни одна из них

Функция коррекции

- А. $5' \rightarrow 3'$ элонгационная активность Таq полимеразы
- В. $5' \rightarrow 3'$ экзонуклеазная активность Таq полимеразы
- С. Обе
- D. Ни одна из них

Функция коррекции

- А. 5'→3' элонгационная активность Таq полимеразы
- В. 5'→3' экзонуклеазная активность Таq полимеразы
- С. Обе
- Д. Ни одна из них

По мере протекания реакций ПЦР в какой-то момент флуоресценция усиливается в обеих смесях. Какой процесс может это объяснить?

А. Молекулы зонда TaqMan разлагаются на нуклеотиды.

Б. Молекулы зонда TaqMan расщепляются на более мелкие олигонуклеотиды

С. Молекулы зонда TaqMan высвобождаются из матрицы в виде интактных олигонуклеотидов.

Д. Молекулы зондов TaqMan служат праймерами для полимеразы Taq

Е. Молекулы зонда TaqMan встраиваются во вновь синтезированные цепи ДНК.

По мере протекания реакций ПЦР в какой-то момент флуоресценция усиливается в обеих смесях. Какой процесс может это объяснить?

А. Молекулы зонда TaqMan разлагаются на нуклеотиды.

Б. Молекулы зонда TaqMan расщепляются на более мелкие олигонуклеотиды

С. Молекулы зонда TaqMan высвобождаются из матрицы в виде интактных олигонуклеотидов.

Д. Молекулы зондов TaqMan служат праймерами для полимеразы Taq

Е. Молекулы зонда TaqMan встраиваются во вновь синтезированные цепи ДНК.

Почему после нескольких первых циклов ПЦР в образцах не наблюдается флуоресценции?

- А. Потому что полимераза Taq разрушает молекулы зонда TaqMan.
- Б. Поскольку полимераза Taq разрушает праймеры.
- С. Потому что нет синтеза ДНК.
- D. Потому что гасители блокируют флуоресценцию всех молекул репортерного красителя.
- Е. Потому что детектор флуоресценции недостаточно чувствителен.

Почему после нескольких первых циклов ПЦР в образцах не наблюдается флуоресценции?

- А. Потому что полимераза Таq разрушает молекулы зонда ТаqMan.
- Б. Поскольку полимераза Таq разрушает праймеры.
- С. Потому что нет синтеза ДНК.
- D. Потому что гасители блокируют флуоресценцию всех молекул репортерного красителя.
- Е. Потому что детектор флуоресценции недостаточно чувствителен.

Почему флуоресценция не увеличивается после 30 цикла ни в одном из образцов?

- А. Поскольку были использованы все молекулы праймеров
- Б. Потому что были использованы все молекулы зондов TaqMan.
- С. Потому что были использованы все молекулы-шаблоны.
- D. А и В.
- E. А, В и С. 1

Почему флуоресценция не увеличивается после 30 цикла ни в одном из образцов?

- А. Поскольку были использованы все молекулы праймеров
- Б. Потому что были использованы все молекулы зондов TaqMan.
- С. Потому что были использованы все молекулы-шаблоны.
- Д. А и В.
- Е. А, В и С. 1

Что случилось с геном HER2 в клетках опухоли груди?

- А. Его количество копий увеличилось примерно в 30 раз.
- Б. Количество его копий увеличилось примерно в 5 раз,
- С. Количество копий уменьшилось примерно в 30 раз,
- D. Количество копий уменьшилось примерно в 5 раз,
- Е. Его экспрессия снизилась примерно в 5 раз.

Что случилось с геном HER2 в клетках опухоли груди?

- А. Его количество копий увеличилось примерно в 30 раз.
- Б. Количество его копий увеличилось примерно в 5 раз,
- С. Количество копий уменьшилось примерно в 30 раз,
- D. Количество копий уменьшилось примерно в 5 раз,
- Е. Его экспрессия снизилась примерно в 5 раз.

(В этом типе вопросов парные утверждения описывают две сущности, которые необходимо сравнить в количественном смысле. Выберите А., если А больше В. В., если В больше А. С., если эти два равны или почти равны.)

- А. Количество свободных молекул праймера в образце А после цикла 4.
- Б. Количество свободных молекул праймера в образце А после 10 цикла.

(В этом типе вопросов парные утверждения описывают две сущности, которые необходимо сравнить в количественном смысле. Выберите А., если А больше В. В., если В больше А. С., если эти два равны или почти равны.)

- А. Количество свободных молекул праймера в образце А после цикла 4.
- Б. Количество свободных молекул праймера в образце А после 10 цикла.

- А. Количество свободных молекул праймера в образце А после цикла 10.
- В. Количество свободных молекул праймера в образце В после 10 цикла.

- А. Количество свободных молекул праймера в образце А после цикла 10.
- В. Количество свободных молекул праймера в образце В после 10 цикла.

- А. Количество свободных молекул зонда TaqMan в образце А после цикла 10.
- В. Количество свободных молекул зонда TaqMan в образце В после цикла 10.

- А. Количество свободных молекул зонда TaqMan в образце А после цикла 10.
- В. Количество свободных молекул зонда TaqMan в образце В после цикла 10.

- А. Количество свободных молекул зонда TaqMan в образце А после цикла 18.
- В. Количество свободных молекул зонда TaqMan в образце В после цикла 18.

- А. Количество свободных молекул зонда TaqMan в образце А после цикла 18.
- В. Количество свободных молекул зонда TaqMan в образце В после цикла 18.

- А. Количество репортерных комплексов краситель / монопуклеотид в образце А после 18 цикла.
- В. Количество репортерных комплексов краситель / монопуклеотид в образце В после цикла 18.

- А. Количество репортерных комплексов краситель / монопуклеотид в образце А после 18 цикла.
- В. Количество репортерных комплексов краситель / монопуклеотид в образце В после цикла 18.

- А. Количество амплифицированных фрагментов HER2 в образце А после цикла 20.
- В. Количество амплифицированных фрагментов HER2 в образце В после цикла 20.

- А. Количество амплифицированных фрагментов HER2 в образце А после цикла 20.
- В. Количество амплифицированных фрагментов HER2 в образце В после цикла 20.

- А. Количество амплифицированных фрагментов HER2 в образце А после цикла 30.
- В. Количество амплифицированных фрагментов HER2 в образце В после цикла 30.

- А. Количество амплифицированных фрагментов HER2 в образце А после цикла 30.
- В. Количество амплифицированных фрагментов HER2 в образце В после цикла 30.

Спасибо за внимание

