

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ТУР

Физика, Химия, Биология

Заполните таблицу:

ИМЕНА И ФАМИЛИИ СТУДЕНТОВ:	<hr/> <hr/> <hr/>
№ КОМАНДЫ:	
СТРАНА:	
ПОДПИСИ:	<hr/> <hr/> <hr/>

Цель этого эксперимента – выделение ДНК из проросших семян пшеницы и сравнение размеров фрагментов ДНК с выданными образцами методом гель-электрофореза

Выделение ДНК из проросших зерен пшеницы

Обратите внимание: Правильных ответов может быть несколько, и вам следует найти все правильные ответы, чтобы получить полный балл. Правильные ответы отметьте галочкой.

Часть процесса выделения ДНК была выполнена персоналом лаборатории заранее.

ДНК может быть выделена из различных тканей растений. Проросшие семена пшеницы являются очень хорошим материалом для выделения ДНК.

Эта часть эксперимента уже сделана:

- Два грамма порошка из проросших зерен пшеницы поместили в пробирку.
- К порошку добавили буферный раствор, содержащий соль и детергенты.
- Ткань инкубировали в растворе при 60°C в течение 20 минут при периодическом помешивании. Пробирки с раствором на несколько минут перенесли на лед и, аккуратно взбалтывая, охладили до температуры около 25°C.
- Пробирки разместили на столе.

Студенты должны начать работу с шага А.

Три миллилитра раствора, содержащего ДНК, поместили в пробирку для дальнейшей работы

А- Возьмите данную вам пробирку, наклоните ее и аккуратно, по стенке, добавляйте в нее спирт (этанол), чтобы он образовал слой над экстрактом из пшеничных зерен. Добавляйте этанол до тех пор, пока его количество не станет приблизительно равным количеству экстракта.

В- В течение 5 минут наблюдайте изменения, происходящие в пробирке. После этого вы можете начать отвечать на вопросы 1 и 2.

1- Какое(ие) изменение(ия) вы наблюдали в пробирке после добавления этанола в раствор, содержащий ДНК? **(1 балл)**

- I. Жидкость в пробирке разделена на два слоя.
- II. Через 5 минут в пробирке появился белый сгусток.
- III. Сгусток ДНК образовался в растворе, но остался невидимым.
- IV. Раствор стал однородно белым.

C- Используя желтый наконечник пипетки или микробиологическую петлю, вытащите сгусток ДНК из пробирки.

D- Перенесите собранную ДНК в пробирку с красителем, помеченную как «Ваш образец» («Your sample»).

Шаг А предполагает использование холодного спирта. Растворенная в воде ДНК взаимодействует со спиртом на границе соприкосновения двух слоев жидкости. Спирт дегидратирует ДНК и вызывает ее свертывание, поскольку ДНК не растворяется в спирте (особенно в холодном).

2- Что происходит в пробирке в течение 5 минут после добавления спирта? **(1 балл)**

- I. ДНК свертывается сразу после добавления спирта.
- II. Тонкие нити ДНК появляются после добавления спирта и их количество постепенно возрастает.
- III. Сгустки ДНК отделяются от нижнего слоя жидкости и плавают в верхнем слое.
- IV. Сгустки ДНК опускаются на дно.

Что такое электрофорез?

Электрофорез – аналитическая методика, использующаяся для разделения смеси макромолекул, таких, как образцы ДНК и РНК или образцы белков, по их физическим свойствам. Анализируемые молекулы ДНК помещают в вязкую среду (агарозный гель) и заставляют двигаться сквозь гель.

Агароза – это природный полимер, получаемый из морских водорослей. При смешивании с водой он образует гель, в котором молекулы агарозы сплетены в пористую сеть.

Красители бромфеноловый синий и ксилол цианол движутся через агарозный гель примерно с той же скоростью, что и фрагменты двойной спирали ДНК длиной 500 и 4000 пар нуклеотидов соответственно.

3 - Что заставляет молекулы ДНК двигаться через агарозный гель? **(1 балл)**

- I. Внешнее электрическое поле
- II. Гравитационное поле
- III. Электрические силы между молекулами
- IV. Наведенное магнитное поле
- V. Гидрофобные взаимодействия

4 - Что в эксперименте является основным фактором, замедляющим движение молекулы ДНК через агарозный гель? **(1 балл)**

- I. Электрический заряд молекулы ДНК
- II. Электрическое поле в геле
- III. Размер молекулы ДНК
- IV. Толщина геля

5 - Молекула ДНК имеет и движется по направлению к **(1 балл)**

- I. отрицательный электрический заряд – аноду
- II. положительный электрический заряд – аноду
- III. положительный электрический заряд – катоду
- IV. отрицательный электрический заряд – катоду

6 – Выберите, какой из предложенных вариантов правильно заканчивает приведенную фразу. Чем больше концентрация агарозы в геле, тем в геле. **(1 балл)**

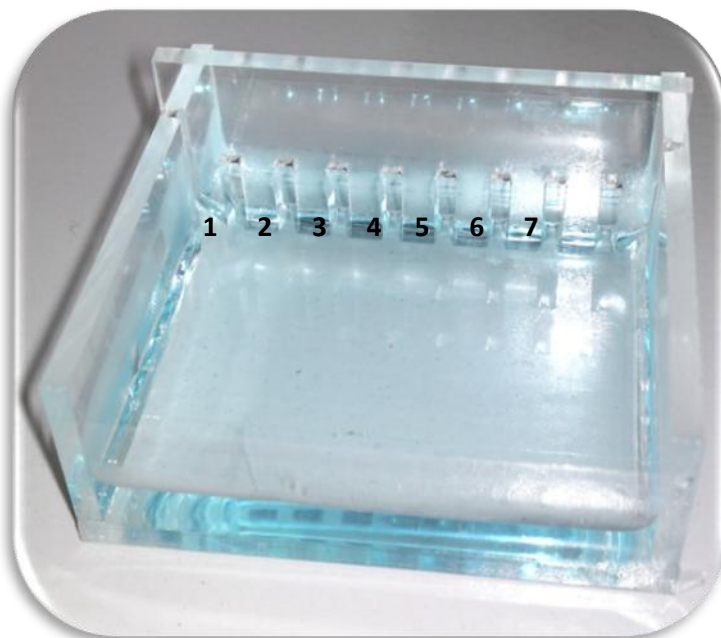
- I. меньше поры
- II. больше поры



В состав каждой установки входит контейнер с агарозным гелем, в котором есть 7 лунок для образцов. Для помещения образца в лунку возьмите шприц, присоедините к нему желтый наконечник и наберите в наконечник пробу образца. Проба в наконечнике не должна заполнять его более, чем на половину его длины. Поместите в лунку только одну капельку образца. Для каждого образца используйте новый наконечник. Вы не должны разрушить лунку в процессе заполнения. Если у вас не получилось провести процедуру заполнения лунок, вы можете позвать дежурного, чтобы помочь вам, но при этом вы будете оштрафованы на **2** (два) балла.

Поместите образцы в лунки следующим образом:

- Лунки 1 и 2 – ваш образец, он помечен смайликом. Первая лунка предназначена для тренировки в заполнении лунки, а вторая – для эксперимента.
- Лунка 3 – пустая
- Лунка 4 – образец X1
- Лунка 5 – образец X2
- Лунка 6 – образец X3



Установка для электрофореза ДНК

7. Какой из образцов идентичен «вашему образцу»? (3 балла)

- I. X1
- II. X2
- III. X3

8. Определите напряжение источника и запишите его на листе ответов. (1 балл)

9. Для следующей части эксперимента соберите установку для электрофореза, добавьте в неё мультиметр для измерения силы тока и попросите дежурного ее проверить. (2 балла)

10. Измерьте силу тока в цепи и расстояние, которое прошли в контейнере молекулы образцов X1, X2, X3. Запишите свои данные в таблицу. Напряжение источника считается постоянным. Проводите измерения для всех 4 образцов одновременно. В начале измерений $t = 0$, а сами измерения должны проводиться до $t = 40$ мин с шагом по времени 5 минут. Образец X2 содержит 2 различных типа молекул, обозначаемых p и q . После разделения электрофорезом молекула p образует полосу светло-синего цвета, а молекула q – темно-синего цвета. (8 баллов)

11. Определите сопротивление цепи и запишите его в таблицу. (2 балла)

Время, минуты	Сила тока I , мА	Расстояние x , мм			Сопротивление R , Ом	
		X1	X2			X3
			p	q		
0						
5						
10						
15						
20						
25						
30						
35						
40						

12. Нарисуйте график зависимости силы тока от времени. **(1,5 балла)**
13. Нарисуйте график зависимости сопротивления от времени. **(1,5 балла)**
14. Для образцов *X1* и *X3* постройте графики зависимости расстояния от времени. Подпишите свои графики соответствующими символами. **(4 балла)**
15. Определите напряженность электрического поля в контейнере, если поле можно считать однородным. **(1 балл)**

Молекулы движутся с финальной скоростью в геле, если сила, действующая на молекулы, равна силе сопротивления со стороны геля. Сила сопротивления равна произведению коэффициента сопротивления на финальную скорость.

16. Считая, что электрический заряд каждой молекулы равен $1 \cdot 10^{-16}$ Кл, вычислите коэффициент сопротивления геля для образцов *X1* и *X3*. **(2 балла)**
17. Подвижность по определению равна отношению финальной скорости к напряженности приложенного электрического поля. Вычислите подвижность для образцов *X1* и *X3*. **(2 балла)**
18. В процессе электрофореза на электродах постоянно выделялись пузырьки газа. Напишите химические формулы выделяющихся на катоде и аноде газов. **(0,5 балла)**
19. Напишите полуреакции, проходящие на электродах: **(2 балла)**
20. С помощью стрелочек (\uparrow для увеличения, \downarrow для уменьшения или \leftrightarrow для отсутствия изменений) заполните строчки: **(1,5 балла)**

pH раствора возле анода в процессе электрофореза:

pH раствора возле катода в процессе электрофореза:

pH итогового раствора после электрофореза:

21. Ферменты рестриктазы могут разрезать молекулу ДНК в определенных местах, в результате чего образуются фрагменты ДНК разной длины. В эксперименте молекула ДНК была разрезана в точках, отмеченных стрелками. Фрагменты ДНК были затем разделены с помощью электрофореза. На какой из приведенных схем (с 1 по 5) показан наиболее вероятный результат этого эксперимента, если была разрезана линейная молекула ДНК? **(1 балл)**

22. Какая из приведенных схем будет правильной, если молекула ДНК была кольцевой? **(1 балл)**

