

## Ćwiczenie

Celem ćwiczenia jest wykonanie odpowiednich obliczeń do przygotowania mieszaniny do Reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR)

1. Przygotuj mieszaninę reakcyjną dla 3 prób ( 2 próbki+ kontrola negatywna). Mieszaniny reakcyjne mogą być przygotowane jednocześnie dlatego dokonaj odpowiednich obliczeń poszczególnych odczynników dla wszystkich 3 prób. W tabeli poniżej zamieszczono pola potrzebne do wykonania odpowiednich obliczeń. Uzyskaną wartość dla objętości całkowitej MMix-u należy podzielić przez ilość próbek. Otrzymana wartość jest objętością mieszaniny reakcyjnej jaką należy rozporcjować do poszczególnych próbek. Powinna być ona zgodna z sumą składników zliczanych do MMix-u przeznaczonych dla próbki.

| Odczynnik                     | Ilość w $\mu\text{l}$ | Ilość na 3 próby (MMix) | Suma w $[\mu\text{l}]$ | Rozporcjować po $[\mu\text{l}]$ |
|-------------------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------------|
| Woda do PCR                   | 31                    |                         |                        |                                 |
| 10 × Bufor do reakcji PCR     | 5                     |                         |                        |                                 |
| Mg $\text{Cl}_2$ [50 mM]      | 2                     |                         |                        |                                 |
| Roztwór dNTPs [8 mM]          | 5                     |                         |                        |                                 |
| Starter 1 [10 $\mu\text{M}$ ] | 2                     |                         |                        |                                 |
| Starter 2 [10 $\mu\text{M}$ ] | 2                     |                         |                        |                                 |
| Termostabilna polimeraza DNA  | 1                     |                         |                        |                                 |
| DNA matrycowe( badana próbka) | 2                     |                         |                        |                                 |
| Objętość końcowa              | 50                    |                         |                        |                                 |

2. Składniki mieszaniny należy dodawać do jednej probówki w kolejności zamieszczonej w tabeli i w ilościach wyliczonych dla MMix-u. Wymieszać w probówce za pomocą pipety a następnie rozporcjować do 3 probówek do PCR.

Powyższe zadanie wymaga dokładności, skupienia, posiadania umiejętności wykonywania prostych obliczeń matematycznych oraz umiejętności posługiwania się sprzętem laboratoryjnym. Jest to ćwiczenie do wykonania indywidualnie, a więc wskazane dla osób, które preferują samodzielne wykonywanie powierzonych zadań. Jeżeli posiadasz takie umiejętności to odnajdziesz się w takich zawodach jak diagnosta laboratoryjny, genetyk, farmaceuta, biotechnolog, chemik.