

Cilj te naloge je narediti pravilne izračune za pripravo zmesi za verižno reakcijo s polimerazo (PCR).

1. Pripravite reakcijsko mešanico za 3 poskuse (2 vzorca + negativna kontrola). Reakcijske mešanice je mogoče pripraviti hkrati, zato naredite pravilne izračune posameznih reagentov za vse 3 poskuse. V spodnji tabeli so predstavljena polja, potrebna za pravilne izračune. Dobljeno vrednost skupne glasnosti MMix je potrebno deliti s številom poskusov. Dobljena vrednost je prostornina reakcijske mešanice, ki jo je potrebno razdeliti v posamezne epruvete. Biti mora skladen z vsoto sestavin, prešteti v MMix, namenjen vzorcu.

| Reagent                      | Količina v $\mu$ l | Količina za 3 vezi (MMix) | Seštevek v [ $\mu$ l] | Razdeljeno v [ $\mu$ l] |
|------------------------------|--------------------|---------------------------|-----------------------|-------------------------|
| Voda za PCR                  | 31                 |                           |                       |                         |
| 10 × PCR reakcijski pufer    | 5                  |                           |                       |                         |
| MgCl <sub>2</sub> [50 mM]    | 2                  |                           |                       |                         |
| Rešitev dNTP[8 mM]           | 5                  |                           |                       |                         |
| Začetnik 1[10 $\mu$ M]       | 2                  |                           |                       |                         |
| Začetnik 2[10 $\mu$ M]       | 2                  |                           |                       |                         |
| DNA termostabilna polimeraza | 1                  |                           |                       |                         |
| matrični DNK (testni vzorec) | 2                  |                           |                       |                         |
| Končna glasnost              | 50                 |                           |                       |                         |

2. Sestavine mešanice je treba dodati v eno epruveto po vrstnem redu, navedenem v tabeli, in v količinah, izračunanih za MMix. V epruveti ga je potrebno zmešati s **pipeto** in nato razdeliti v 3 epruvete za PCR.

Zgornja naloga zahteva natančnost, osredotočenost, veščine preprostih matematičnih izračunov in spretnosti uporabe laboratorijske opreme. To je vaja, ki jo je treba izvajati individualno, zato jo priporočamo osebam, ki imajo raje samostojno opravljanje zaupanih nalog. Če imate te veščine, se boste znašli v poklicih, kot so: laboratorijski diagnostik, genetik, farmacevt, biotehnolog, kemik.