

# *Gyakorlati Forduló*

## *Fizika, Kémia, Biológia*

---

*Töltsd ki az alábbiakat!*

<i>DIÁKOK NEVE:</i>	
<i>CSOPORT JELE:</i>	
<i>ORSZÁG:</i>	
<i>ALÁÍRÁSOK:</i>	

Ennek a kísérletnek a célja a DNS kivonása csírázó búzából.

Azután a kiadott mintában lévő DNS fragmentek méretének összehasonlítása gél-elektroforézissel.

*DNS extrakció búzacsírából*

*Megjegyzés: Akár több válasz is helyes lehet és a teljes pontszámhoz az összeset meg kell jelölnöd. Pipáld a megfelelő válasznál!*

*A DNS kivonás folyamatának egyes részeit a laborszemélyzet már megcsinálta.*

*A DNS egy csomó növényi szövetből izolálható. A búzacsíra egy kiváló DNS-forrás.*

*A folyamat ezen részét már elvégezték számotokra.*

- *Egy kémcsőbe 2 gramm szárított búzacsírát tettek.*
- *Ezután egy puffert, só és detergenst tartalmazó oldatot adtak hozzá.*
- *A szövetet ezután 20 percig 60°C-on gyakori kevergetés mellett inkubálták. A búzacsíra keveréket tartalmazó kémcsövet ezután egy pár percre jeges fürdőbe helyezték, hogy gyorsan 25°C-ra hűljön. Ezalatt gyengéden kavargatták.*
- *A kémcsövet az asztalra rakták.*

*Az A lépéstől kezdjétek a kísérletezést!*

*A laborszemélyzet elkészítette a DNS-tartalmú oldatot és egy kémcsőben 3 ml-t adott ki minden csapatnak.*

- A- Billentsétek meg a kémcsövet és lassan öntsetek alkoholt (Ethanol) a kémcsőbe az oldala mentén úgy, hogy az a búzacsíra kivonat felett önálló réteget képezzen! Addig öntsétek az alkoholt, amíg a búzacsíra trutymóval azonos vastagságú nem lesz.*
- B- Körülbelül 5 percig figyeljétek, hogy mi történik. Bármilyen változás fontos lehet. Ezután válaszolhattok az 1. és 2. kérdésre!*

**1– Milyen változás(oka)t figyeltetek meg az alkoholnak a DNS-oldathoz adása után? (1 pont)**

- I. Két fázis figyelhető meg.*
- II. 5 perc alatt tejfehér csapadék jelent meg.*
- III. DNS csomók keletkeztek az oldatban, de láthatatlanok.*
- IV. Tejfehér homogén oldat keletkezett.*

- C- *Sárga fecskendőheggyel vagy a fémkacssal húzzátok ki a DNS csomót!*
- D- *A "Your Sample" (a ti mintátok) címkéjű kémcsőben lévő festékkoldatba vigyétek át a begyűjtött DNS-t!*

*Az „A” lépéshez hideg alkohol szükséges. A feloldott DNS a két folyadékréteg határán érintkezik az alkohollal. Az alkohol dehidrálja és kicsapja a DNS-t, mivel a DNS oldhatatlan az alkoholban (különösen a hideg alkoholban).*

- 2– *Mi történik a kémcsőben az 5 perces időszak alatt, miután hozzáadtuk az alkoholt? (1 pont)*
- I. DNS csomók jelennek meg azonnal az etanol hozzáadása után.*
  - II. Egy nagyon vékony DNS-fonál jelenik meg az etanol hozzáadása után és ennek mennyisége folyamatosan nő.*
  - III. DNS csomók válnak el az alsó fázistól és felúsznak a felső fázisba.*
  - IV. DNS csomók süllyednek a kémcső aljára.*

### **Mi az elektroforézis?**

Az elektroforézis a DNS-hez, RNS-hez vagy fehérjékhez hasonló makromolekulák fizikai tulajdonságain alapuló elválasztására szolgáló technika. Az analizálni kívánt DNS molekulákat egy viszkózus anyagra, az agaróz géltre viszik, és arra kényszerítik, hogy végigvándoroljanak a gélen.

Az agaróz egy tengeri moszatból készült természetes polimer és porózus, lyukacsos hálózatot képez, ha vizet adnak hozzá és gélt csinálnak belőle.

A brómfenolkék festék körülbelül ugyanolyan sebességgel halad végig az agaróz gélen, mint az 500 bázispárból álló DNS fragment, a xilolkék pedig úgy, mint a 4000 bázispárból álló DNS fragment.

- 3– *Mi kényszeríti a DNS molekulát az agaróz gélen való végig haladásra? (1 pont)*
- I. Külső elektromos mező*
  - II. Gravitációs mező*
  - III. A molekulák közötti elektromos erők*
  - IV. Indukált mágneses mező*

4– *A kísérletben az egyes DNS-molekulák agaróz gélben való haladásának sebességét legfőképpen korlátozza ... (1 pont)*

- I. a DNS molekula elektromos töltése*
- II. az elektromos erőtér a gélben*
- III. a DNS molekula mérete*
- IV. a gél vastagsága*

5- A DNS molekula elektromos töltése ..... és a(z) ..... felé vándorol **(1 pont)**

- I. Negatív – anód
- II. Pozitív – anód
- III. Pozitív – katód
- IV. Negatív – katód

6– Az alábbiak közül melyik kifejezéssel egészíthető ki helyesen a következő mondat? **(1 pont)**

*Minél nagyobb az agaróz koncentrációja a gélben, annál  
..... a gélben.*

- I. kisebbek a pórusok
- II. nagyobbak a pórusok



Minden csapat kapott egy agaróz gélt. Minden agaróz gél 7 mélyedést tartalmaz, amelyekbe a mintákat kell tölteni. Sárga hegygel ellátott fecskendőbe szívjátok fel a mintát! A minta kevesebb legyen, mint a fecskendőhegy hosszának fele! Csak egyetlen csepp mintát töltsetek a mélyedésbe! Minden egyes mélyedés megtöltéséhez új hegyet használjatok! Vigyázzatok, hogy nem sérüljön meg a mélyedés! Ha nem tudjátok megcsinálni, hívjátok a laboránst, de akkor **2** büntető pontot kaptok.

A mélyedésekben, megfelelő sorrendben a következő minták legyenek:

- 1 & 2: a ti mintátok ("Your Sample"), amely egy mosolygós arccal van ellátva. Az 1. a feltöltés gyakorlására, a 2-es pedig a tényleges futtatásra.
- 3, ezt hagyjátok üresen!
- 4, az X1 minta (Sample X1)
- 5, a X2 minta (Sample X2)
- 6, az X3 minta (Sample X3)



---

#### DNS Elektroforézis Berendezés

7. Melyik mintával (sávval) azonos a ti mintátok ("Your Sample")? **(3 pont)**

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

- 8. MÉRJÉTEK MEG, ÉS JEGYEZZÉTEK FEL MEKKORA FESZÜLTSEGET SZOLGÁLTAT A TÁPEGYSÉG!

**(1 pont)**

9. Ebben a részben előbb állítsátok össze az elektroforézist, és kapcsoljátok hozzá a multimétert az áramerősség mérésére, majd kérjétek meg az egyik felügyelőt, hogy ellenőrizze, helyes-e! **(2 pont)**

- 10. MÉRJÉTEK AZ IDŐ FÜGGVÉNYÉBEN AZ ÁRAMKÖRBE FOLYÓ ÁRAM ERŐSSÉGÉT, ÉS A MOLEKULÁK (X1, X2, X3) ÁLTAL A KÁDBAN MEGTETT UTAT! EREDMÉNYEITEKET JEGYEZD FEL A TÁBLÁZATBA! A TÁPEGYSÉG FESZÜLTSEGE TEKINTHETŐ ÁLLANDÓNAK. EGYSZERRE MÉRD MIND A NÉGY MINTÁT! KEZDJÉTEK A MÉRÉST  $t=0$ -NÁL, ÉS  $t=40$  PERCIG MÉRJÉTEK, 5 PERCES IDŐKÖZÖNKÉNT. AZ X2-ES MINTA KÉTJÉLE MOLEKULÁT TARTALMAZ, MELYEKET  $p$ -VEL ÉS  $q$ -VAL JELÖLTÜNK. A  $p$  JELŰ MOLEKULA VILÁGOSKÉK, MÍG A  $q$  JELŰ SÖTÉTKÉK SZÍNT MUTAT, MIALATT AZ ELEKTROFORÉZISSSEL FUTTATOD A MINTÁIDAT. **(8 pont)**

- 11. SZÁMÍTSÁTKI KI AZ ELLENÁLLÁST, ÉS JEGYEZZÉTEK FEL A TÁBLÁZATBA! **(2 pont)**

Idő percben	Áramerősség(I) mA-ben	Megtett út (x) mm-ben			Ellenállás (R) $\Omega$ -ban	
		X1	X2			X3
			p	q		
0						
5						
10						
15						
20						
25						
30						
35						
40						

- 12. *Ábrázoljátok az áramerősséget az idő függvényében! (1,5 pont)*
- 13. *Ábrázoljátok az elektromos ellenállást az idő függvényében! (1,5 pont)*
- 14. *Az X1 és X3 minták esetében ábrázoljátok a megtett utat az idő függvényében! Címkezzétek megfelelően a grafikont! (4 pont)*
- 15. *Tegyük fel, hogy az elektromos térerősség az edényben állandó. Számítsátok ki a nagyságát! (1 pont)*

*A molekulák akkor érik el végsebességüket, mikor a gélben ébredő közegellenállási erő egyenlővé válik a rájuk ható külső erővel. A közegellenállási erő a végsebesség és a közegellenállási együttható szorzata.*

- 16. *Tegyük fel, hogy minden egyes molekula töltése  $1 \cdot 10^{-16}$  C. Számítsátok ki a gél közegellenállási együtthatóját az X1 és X3 minták esetében! (2 pont)*
- 17. *A mozgékonyág definíció szerint a molekulák végsebességének és az elektromos térerősségnek a hányadosa. Számítsátok ki az X1 és X3 molekulák mozgékonyágát! (2 pont)*

18. Az elektroforézis során mindkét elektródánál buborékok folyamatos keletkezése figyelhető meg. Írjátok le az egyes elektródokon keletkező gázok képletét! **(0,5 pont)**

Anód:

Katód:

19. Írjátok le az anód- és katód folyamat (félcella-reakció) egyenletét! **(2 pont)**

Anód:

Katód:

20. A megfelelő nyíllal ( $\uparrow$  : növekszik,  $\downarrow$ : csökken,  $\leftrightarrow$ : nem változik) fejezzétek be az állításokat! **(1,5 pont)**

Az oldat pH-ja az elektroforézis során az anód közelében:

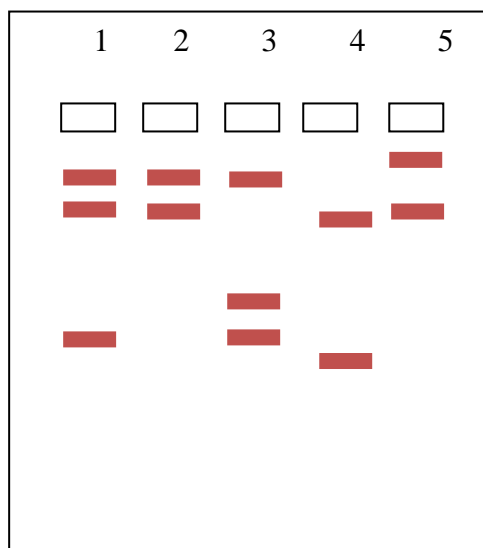
Az oldat pH-ja az elektroforézis során a katód közelében:

A teljes oldat pH-ja az elektroforézis során:



21. Az ún. restrikciós enzimek a DNS molekulát meghatározott helyeken szétvágják, és DNS fragmenteket (darabokat) hoznak létre. Az alábbi ábrán látható DNS mintát restrikciós enzimekkel kezelték a nyíllal jelölt pontokon. Ezután a DNS darabokat elektroforézissel szétválasztották. Az alábbi minták (1-től 5-ig) közül melyik a legvalószínűbb eredmény, ha a DNS lineáris? **(1 pont)**

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---



22. Ha a DNS molekula cirkuláris (kör alakú) volna, teljes emésztés után melyik minta lenne a helyes válasz? **(1 pont)**

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---