

## Kiegészítő leirat a Transzgénikus organizmusok c. tárgy beadandó feladatához

*Nagy Kinga; Molnár Petra*

*nagy.kinga@ttk.mta.hu*

*molnar.petra@ttk.mta.hu*

Megadtunk két szekvenciát: egy plazmidot (pET15b) és egy fehérjét kódoló gént (UNG) tartalmazó vektort (pGEX-5X-1). A feladat a pGEX-5X-1 vektorban található UNG gén átklónoozása az üres pET15b vektorba.

1. Primerek megtervezése
2. PCR reakció körülményeinek beállítása
3. Restriktációs enzim(ek) kiválasztása, az emésztés körülményeinek beállítása
4. Ligálás (enzim és körülmény kiválasztása)
5. Transzformálás
6. Szelekció
7. Genotipizálás

A feladat során a SnapGENE szoftvert használjátok, amelynek az 1 hónapig használható próbaverziója ingyenesen letölthető a [www.snapgene.com](http://www.snapgene.com) weboldaltól. A primerek tervezése során használjátok a New England BioLabs (NEB) Tm Calculator nevű online funkcióját. A PCR reakciókörülmények megtervezéséhez használjátok a NEB Cloner nevű online funkcióját.

A feladat megoldását egy 3-5 oldalas dolgozat formájában kell beadnotok. Ennek leadási határideje a gyakorlatok időpontjától számított egy hónap. A gyakorlat időpontjától számított két héten belül konzultációra is van lehetőség. A feladatot 4-5 fős csoportokban kell elvégeznetek, és csoportonként egy beadandót kell leadnotok. A feladat értékelése a laboroknál is alkalmazott elfogadva/el nem fogadva rendszer szerint zajlik.

Segítő kérdések a feladat megoldásához:

- Mi a plazmidokon az inszertek számára kialakított szakasz? Miért alkalmas ez az inszert beépítésére?
- Milyen szempontokat kell figyelembe venni a restriktációs enzimek kiválasztása során?
- Mik a primertervezés általános szabályai?
- Mi a szerepe a plazmidokon található különféle szakaszoknak? Hogyan használjuk ki ezeket a tényleges klónozás során?
- Milyen szempontokat kell figyelembe venni a PCR reakciók tervezésénél?

Gondolkodtató kérdések:

- Vajon milyen okai lehetnek, hogy a gént át szeretném tenni egyik vektorból a másikba? (több helyes válasz is lehetséges)
- A fent felsorolt 7 alap lépésen kívül milyen egyéb lépésekre van / lehet szükség egy tényleges klónozás során?