

Практикум по генной инженерии, задача 2

Синтез кДНК на матрице суммарной РНК

Время выполнения – 1,5-2 учебных дня.

Задача включает приготовление амплифицированной двухцепочечной кДНК и оценку качества препарата с помощью гель-электрофореза. При проведении этой задачи студенты обучаются синтезировать первую цепь кДНК, получают сведения о постановке и оптимизации условий ПЦР, учатся анализировать качество препарата кДНК на агарозном геле.

В качестве стартового материала может быть использована РНК, полученная при выполнении задачи 1, или контрольная РНК из набора *Clavularia* FP cloning set.

Материалы и оборудование для выполнения задачи

- Набор для практикума *Clavularia* FP cloning set (Евроген, MB001)
- Набор для синтеза кДНК Mint (Евроген, SK001 или SK005)
- Минеральное масло для молекулярно-биологических работ или аптечное вазелиновое масло (если амплификатор не имеет нагревающейся крышки)
- Амплификатор
- Настольная центрифуга
- Вортекс (желательно)
- Ледяная баня
- Пробирки для ПЦР (0,5 или 0,2 мл)
- Штатив для пробирок
- Стерильные наконечники для пипеток
- Автоматические пипетки на 10-20, 200 и 1000 мкл
- Перчатки
- Реактивы и оборудование для гель-электрофореза
 - Агароза
 - 1X Трис-ацетатный буфер (40 мМ Трис-ацетат, pH 7,8-8,0; 1 мМ ЭДТА)
 - ▶ Удобно иметь 10-кратный стоковый раствор буфера и разводить его до однократного перед использованием.
 - Концентрированный раствор бромистого этидия, 10 мг/мл (хранить при +4°C в темной склянке)
 - Буфер для нанесения проб (10 мМ Трис-HCl, pH 7,8; 0,025% бромфеноловый синий; 0,025% ксиленцианол; 30% глицерин; 25 мМ ЭДТА)
 - Маркер молекулярных длин ДНК (1 kb или 100 bp DNA ladder)

- Камера для агарозного гель-электрофореза, включая основную камеру, прозрачный для ультрафиолета лоток для геля (20 x 10 см), бортики для гелевого лотка, гребенку
- Источник постоянного тока
- Весы
- Трансиллюминатор
- Система гель-документации
- Стеклянная колба