

Практикум по генной инженерии, задача 3

Идентификация 3'- и 5'-концевых фрагментов целевых транскриптов

Время выполнения: 2 учебных дня.

Задача включает два или три последовательных раунда быстрой амплификации 3'-концевого фрагмента кДНК флуоресцентного белка из кораллового полипа *Clavularia* (3'-RACE). В результате выполнения задачи должен быть получен гомогенный продукт ПЦР длиной около 550 п.о., соответствующий 3'-концевой последовательности мРНК.

Продукт амплификации может быть клонирован и секвенирован, если учебный центр оснащен необходимым оборудованием. При проведении задачи учащиеся отрабатывают навыки постановки и оптимизации условий ПЦР, приобретают представление о полном цикле процедуры идентификации полноразмерных транскриптов. В качестве стартового материала может быть использована кДНК, полученная при выполнении задачи 2, или контрольная кДНК из набора *Clavularia FP cloning set* (кат. # MB001, Евроген).

► В целях экономии времени, процедура 5'-RACE вынесена за рамки лабораторной работы и рассматривается только теоретически.

Материалы и оборудование для выполнения задачи 3

- Набор для практикума *Clavularia FP cloning set* (кат. # MB001, Евроген).
- Набор для ПЦР *Encyclo Plus PCR kit* (кат. # PK101, Евроген).
- Минеральное масло для молекулярно-биологических работ (если амплификатор не имеет нагревающейся крышки).
- Реактивы и оборудование для гель-электрофореза (Приложение 1).
- Амплификатор.
- Мини-центрифуга.
- Пробирки для ПЦР (0.5 или 0.2 мл).
- Автоматические дозаторы на 10, 20, 200 и 1 000 мкл.
- Наконечники для дозаторов с фильтрами.
- Штатив для пробирок.
- Перчатки.

► Если планируется клонирование продукта 3'-RACE, дополнительно понадобятся:

- материалы и оборудование для клонирования продукта 3'-RACE;
- материалы и оборудование для ПЦР-скрининга (Приложение 6);
- набор для выделения плазмидной ДНК (кат. # BC221, Евроген).