

Ara Sınav Soruları

Soru 1: DNA miktarını saptamak için spektrofotometrik yöntemin arkasındaki prensibi açıklayınız:

Cevap1: 260 nm'de 1 cm yol uzunluğundaki OD = 50 μ g/ml çift sarmal DNA için, 40 μ g/ml tek sarmal DNA ve RNA için ve 20-33 μ g/ml oligonükleotitler için. 260 ve 280 nm'deki absorbans değerlerinin oranı solüsyonun saflığıyla ilgili bilgi verir. Saf DNA/RNA solüsyonlarının OD 260/OD 280 değeri 1.8-2.0 arasındadır.

Soru 2: DNA'nın bozunmasına yol açan üç faktörü ve nasıl bozunmaya yol açtığını açıklayınız.

Cevap2: Ağır metaller, fosfodiester bağlarının kırılmasını kolaylaştırır. UV (260 nm frekansında) ışık dimer ve çapraz bağlar dahil olmak üzere lezyona sebep olur. Etidyum bromid DNA'nın foto-oksidasyonuna yol açar. Derideki nücleazlar DNA'nın yıkımına yol açar.

Soru 3: DNA microarray tekniğinin çalışmasını açıklayınız

Cevap3: Mikroarray binlerce mikroskobik DNA oligonükleotit noktalarına sahiptir. Her bir nokta, features, prob denilen özel bir DNA sekansının pikomollerini içerir. Prob-hedef hibritleşmesi genelde hedefteki nükleik asitlerin miktarını belirlemek için floresan etiketli hedeflerin belirlenmesiyle ölçülür ve saptanır. Bir array binlerce prob içerebildiğinden dolayı, bir mikroarray deneyi pek çok genetik testlerin sonucunu verebilir.

Soru 4: DNA sekanslama makinesinin arkasındaki prensibi açıklayınız:

Cevap4: DNA zincirleri floresan boyayla işaretlenmiştir ve bu boyadan gelen ışık sinyalini analiz ederek çalışır. Küçük DNA parçaları jelde daha hızlı ilerleyeceğinden dedektörlerde önce gözükürler. DNA zincirinin uzunluğuyla dedektör zamanı arasındaki doğrudan bağlantı sayesinde DNA sekansı belirlenebilir.

Soru 5: NCBI veritabanının özelliklerini sıralayınız.

Cevap5:

- En popüler olan ve sıklıkla kullanılan biyolojik veri tabanıdır.
- Barındırdığı bilgi yoğunluğu ve çeşidi bakımından en az Ensembl kadar zengin bir veri tabanıdır.
- Kullanıcıya sunulan belirtim tabloları ve bu tabloların görsel sunumu Ensembl'a ve UCSC'ye göre daha azdır.
- Entrez uygulaması ile NCBI'ın içinde barındırdığı bilgiler birleştirilmiştir.
- Genomik bilgiler ile ilgili olan diğer veri tabanlarına veya uygulamalarına yönlendiren bağlantıları barındırmaktadır.
- Genom dizilerinin yanında protein yapı tahminlerini de içeren bir veri tabanıdır.

Soru6: Genom nedir?

Cevap6: Bir organizmanın sahip olduğu kalıtsal materyalinin tümünü ifade eder (kodlanan DNA + kodlanmayan DNA). Ökaryot organizmalar için, kromozomlarında bulunan bütün DNA sekansı, bakteriler için genomik DNA'da bulunan bütün DNA dizisi, virüsler için barındırdığı bütün DNA ve RNA, ilgili organizmanın genomu olarak ifade edilir.

Soru7: Proteomiks nedir, açıklayınız.

Cevap7: Belirli bir genom tarafından ifade edilen proteinleri bütünsel ve birbiriyle etkileşimlerini dahil ederek inceleyen araştırma alanıdır. Bu alan, protein düzeyinde, gen ifadesi örüntüleri protein ve genom ilişkileri, protein-protein etkileşimlerini, protein modifikasyonlarını vs. incelemektedir.

Soru8: Büyük parçalar halinde izole edilmek istenen DNA moleküllerini neden dikkatli bir şekilde işlemek gerekmektedir?

Cevap 8: Büyük parçalar kırılmaya ve zarar görmeye, küçük parçalardan daha çok meyilli olduklarından dolayı. Büyük DNA parçalarını izole ederken farklı metotlar uygulamak gerekmektedir.

Soru9: DNA'nın Etanol kullanılarak Çökeltilmesi protokolünü yazınız.

Cevap9:

1. Maksimum 450 µl'lik DNA örneğimize, 1 /10 hacim oranında, pH 4.8'de 3 M'lık Na-asetat eklenir ve ters çevrilerek yavaşça karıştırılır.
2. Toplam hacmin iki katı %95'lik veya %100'lük etanol eklenir ve karıştırılır
3. Karıştırılan örnekler, soğuk ortamda çökeltilmeye bırakılır. [-20 °C' ta tüm gece (overnight), -70 °C' ta 30 dakika veya kuru buzda 5 dakika]
4. 4 °C' ta 12000 rpm'de 15-30 dakika sentrifüj yapılır
5. Supernatant ayrıştırılır
6. Pellet %70'lik etanol ile yıkanır
7. Örnek kurutulur

Soru10: PCR döngüsünü kısaca anlatınız.

Cevap10:

İlk adımda solüsyonun sıcaklığı artırılarak DNA zincirinin denatüre olması sağlanır. Bu sırada Bundan sonra primerlerin tekli DNA zincirlerine bağlanması için sıcaklık düşürülür. Primerlerin bağlanmasından sonra sıcaklık polimerizasyonun gerçekleşmesi için uygun bir sıcaklığa getirilir: Primerler uzatılır ve primerlerin arasında kalan bölge sentezlenir. Sarmallar tekrar denature

edilir, yeni primerler bağlanır ve DNA sentezi tekrar tekrar gerçekleşir; Bu işlem genelde 20 ila 50 döngü arasında tekrarlanır.

Soru 11: DNA kontaminasyonunu engellemek için hangi noktalara dikkat etmek gerekir?

Cevap11: Örneklerinizi PCR makinasından uzakta hazırlayın.PCR reaksiyonu hazırlamak için kullandığınız pipetleri ve diğer malzemeleri ayırın.Eldiven giyin ve sıklıkla değiştirin.DNA'yı tüm PCR tüplerine en son koyun.

Soru12: Total Rna İzolasyonu Prosedürünü yazınız.

Cevap12:

1- 5 ml kan örneği alınır ve (0.5 ml 0.5 M EDTA,ph:8.0) EDTA içeren tüpe transfer edilir.

2-Eşit hacimde fikolle kan tabakası yavaşça oluşturulur ve 1000xg ,20 dakika satrifüjlenir.

3-Lökosit tabakası dikkatlice alınır ve 1ml PBS ile yıkanır.

4-6500 rpm de 2 dakika mikrosantifüj uygulanır ve süpernatant atılır.

5-Hücrelerin üzerine 1000 µl solusyon D ve 100 µl sodyum asetat eklenir.

6-Tüp çalkalandıktan sonra 100 µl asidik fenol eklenir.

7-İyice karıştırılır ve 200 µl kloroform:izoamil alkol (49:1) karışımından eklenir.

8-15 dakika buz üzerinde bekletilir ve 10000xg,20 dakika satrifüjlenir.

9-Süpernatant alınır ve 1000 µl izopropanol eklenir. Sonra 30 dakika boyunca -20 C°de inkübe edilir.

10-10000xg de 20 dakika tekrar santifüjlenir. Santifüj sonrası RNA peleti tüpün yüzeyinde beyaz bulutsu biçimde görünebilir. Süpernatant atılır.

11-RNA molekülleri %75lik alkolde tekrar süspanse edilir.