

## Biologian yhteisvalinta 18.5.2017

### Mallivastaus

#### Kysymys 2

PCR reaktio on kuvattu BIOS5 kirjassa sivuilla 89-90 ja Biologia kirjasta (Geeni ja Biotekniikka) sivuilla 45-46. Vastaus B)-kohtaan on pääteltävissä BIOS5 sivulla 47 olevan kuvan tai Geeni ja Biotekniikka kirjan sivun 12 informaation perusteella. Tavoitteena on saada tietää, josko kandidaatti ymmärtää, että:

A) PCR tekniikassa monistetaan tiettyä DNA-sekvenssiä, jonka emäsjärjestys (ainakin osittain) tiedetään **(4 p)**.

Pisteytyksen tarkennukset: oleelliset asiat ovat, että reaktiossa **monistetaan DNA:ta** (2 p).

Monistetaan **tietty** sekvenssi (1 p), jonka **emäsjärjestys tiedetään** ainakin osittain (1 p). Nämä asiat voivat selvitä myös muualla vastauksessa.

Siihen tarvitaan pieni määrä monistettavaa DNA:ta, kaksi lyhyttä DNA-aluketta (jotka rajaavat monistettavan alueen), lämmönkestävää DNA-polymeraasientsyymiä, nukleotidejä sekä laitteen jolla liuoksen lämpötilaa kontrolloidaan **(6 p)**.

*Tarkennus:* Tarvitaan **malli-DNA:ta** (2 p) (monistettavaa DNA:ta, pieni määrä), **alukkeita**, jotka pariutuvat malli-DNA:han (2 p), sekä DNA **polymeraasientsyymi**, joka tekee uutta DNA:ta (2 p).

Yleinen toimintaperiaate on, että näytteen lämpötilaa kohotetaan, jotta DNA-juosteet irtoavat toisistaan. Lämpötilaa laskettaessa DNA-alukkeiden sumislämpötilan alapuolelle alukejuosteet pariutuvat alkuperäisjuosteen kanssa. Tämän jälkeen polymeraasientsyymi kopioi malli DNA:n emäspariperiaatteen mukaisesti. Prosessi toistetaan ja kahdesta juosteesta saadaan neljä juostetta jne. **(10 p)**

*Tarkennus:* Oleellinen asia on **lämpötilasykli** (2 p) ja **syklin toistaminen** (2 p). Hyväksytään vastaus kahdella lämpötilalla tai kolmella lämpötilalla. Toinen oleellinen asia on DNA **juosteiden irtoaminen** (2 p) korkeassa lämpötilassa ja **liittyminen** (2 p) uudestaan syklin aikana. (DNA monistuminen voi tulla ilmi vasta tässä kohdassa, annetaan alun 2 p.) (Eksponentiaalinen) monistuminen (kopioituminen emäspariperiaatteen mukaan) jokaisessa lämpötilasyklissä (2 p).

Lämmönkestävän DNA-polymeraasientsyymien käyttöönotto mahdollisti PCR reaktion kulun ilman, että uutta entsyymiä tarvitsee lisätä reaktioon jokaisen kuumennuksen jälkeen (normaalit entsyymit tuhoutuvat 95°C lämpötilassa) **(6p)**.

*Tarkennus:* Oleellinen asia on, että normaalisti entsyymien aktiivisuus häviää korkeassa lämpötilassa ja näin PCR reaktion lämpötilasykli ei toimisi optimilla tavalla, jos entsyymi ei ole lämmönkestävä (4 p). Tämän liittäminen PCR reaktioon (2 p)

B) Sulamislämpötila  $T_m = 2 \times 7^\circ\text{C} + 4 \times 9^\circ\text{C} = 50^\circ\text{C}$ , joten alle 50 °C tai 50 °C on hyväksyttävä vastaus. **(6 p)**.

*Tarkennus:* Saatua oikea tulos (3p) ja se selitetty sanallisesti (eli vastattu kysymykseen missä lämpötilassa aluke kannattaa liittää) (3p). Kaavan ei tarvitse olla esitettyä. Virheet laskuissa -1p - 2p tai -3p virheiden suuruudesta riippuen.

Koska PCR tuote on pidempi kuin aluke, siinä PCR-tuotteessa on enemmän emäksien välisiä sidoksia, jolloin sen sulamislämpötila on suurempi (kts kaava). **(6p)**.

*Tarkennus:* Oleellinen asia on, että osaa soveltaa kaavaa. Eli kertoo, että sulamislämpötila kasvaa, kun DNA pitenee. Vetyxidosten mainintaa ei vaadita, koska sitä ei ole kaikissa kirjoissa. Annetaan 3 p jos mainitaan tuotteen sulamislämpötilan kasvaminen verrattuna alukkeeseen ja 3 p lisää, jos viitataan kaavaan tai muulla tavalla oikein perustellaan.

**YHTEENSÄ 38 p (+ max 4 p vastauksen selkeydestä) = 42 p**