

*Từ năm học 2015-2016 trở về sau, thí sinh làm bài trực tiếp trên đề thi (Không thắp ra đề để làm cho khóa sau đó nữa).*

STT:

TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN  
KHOA SINH HỌC  
BỘ MÔN DI TRUYỀN

**ĐỀ THI THỰC TẬP SINH HỌC PHÂN TỬ**  
Học kì I/NH: 2014-2015  
Thời gian làm bài: 70 phút  
Không được sử dụng tài liệu  
**ĐỀ 1**

HỌ TÊN: *Đỗ Thành Công* ..... MSSV: *1515028* .....

Điểm trắc nghiệm	Điểm tự luận	Tổng

**PHẦN TRẮC NGHIỆM** (4 điểm): Chọn câu trả lời đúng nhất và đánh X vào bảng dưới đây, bỏ câu lựa chọn thì khoanh tròn, chọn lại thì tô đen.

Câu 1	a	b	c	<input checked="" type="checkbox"/>
Câu 2	a	b	<input checked="" type="checkbox"/>	d
Câu 3	a	b	c	<input checked="" type="checkbox"/>
Câu 4	a	b	c	<input checked="" type="checkbox"/>
Câu 5	a	<input checked="" type="checkbox"/>	c	d
Câu 6	a	b	c	<input checked="" type="checkbox"/>

Câu 7	a	<input checked="" type="checkbox"/>	c	d
Câu 8	<input checked="" type="checkbox"/>	b	c	d
Câu 9	<input checked="" type="checkbox"/>	b	c	d
Câu 10	a	b	<input checked="" type="checkbox"/>	d
Câu 11	<input checked="" type="checkbox"/>	b	c	d

Câu 12:

- 12.1: *năng độ và độ tinh sạch*
- 12.2: *Điện di* .....
- 12.3: *sự nhiễm sắc nucleic khác*
- 12.4: *50 và hệ số pha loãng.*

$m_{NaCl} = 0,0001g$   
 $m_{NaCl} = 0,01755g \rightarrow$  cần cân trực tiếp

Câu 1. Một sinh viên muốn pha 10 ml NaCl 125 mM, biết  $M_{NaCl} = 58,44 g/mol$ , cần có độ chính xác 0,0001g. Cách ghi quyết nào sau đây đúng nhất:

- (a) Sử dụng công thức  $m = C \cdot V \cdot M_{NaCl}$  rồi cân trực tiếp lượng này, thêm 10 ml nước cất 2 lần khử trùng.  
 (b) Pha 1000 ml NaCl 125 mM rồi hút lấy 10 ml.  
 (c) Pha 100 ml NaCl 250 mM rồi hút ra 5 ml dung dịch này hòa với 5 ml nước cất 2 lần khử trùng.  
 (d) Hai trong ba cách trên đúng.

Câu 2. Sinh viên A chuẩn bị gel agarose 1,5% như sau: cân 1,5 g agarose cho vào bình chứa  $\rightarrow$  cho vào bình chứa khoảng 150 ml TAE 1X  $\rightarrow$  ...  $\rightarrow$  bổ sung TAE cho đủ 200 ml  $\rightarrow$  ...  $\rightarrow$  đổ khuôn. Chọn câu có các từ thích hợp nhất điền vào chỗ trống:

- a. 1,5 ; khuấy tan ; để nguội đến nhiệt độ phòng  
 b. 2,25 ; làm tan ; để nguội đến khoảng 50-60°C  
 (c) 3 ; đun cho tan ; để nguội đến 50-60°C + bổ sung ethidium bromide  
 d. 1,5 ; đun cho tan ; để nguội đến 50-60°C + bổ sung ethidium bromide

Câu 3. Những hóa chất nào sau đây không thể sử dụng trong quá trình tách chiết DNA

- a. Guanidine thiocyanate  
 b. Isopropanol  
 c. SDS  
 (d) Phenol pH4

Câu 4. Quy trình tách chiết RNA sau đây có chỗ nào không hợp lý? Xử lý mẫu với Trizol + chloroform (1)  $\rightarrow$  ly tâm + thu dịch nổi (2)  $\rightarrow$  thêm muối + ethanol 100% lạnh (tỉ lệ 1V ethanol:1V dung dịch cần rửa) (3)  $\rightarrow$  ly tâm thu dịch nổi (4)  $\rightarrow$  thêm ethanol 70% (5)  $\rightarrow$  ly tâm bỏ dịch nổi (6)  $\rightarrow$  để khô (7)  $\rightarrow$  bảo quản trong DEPC (8)

- a. (1); (6)  
 b. (3); (8)  
 c. (1); (3); (6)  
 (d) (3); (4); (8)

Câu 5. Để tách chiết DNA bộ gene từ vi khuẩn *E. coli* thì câu nào sau đây đúng và đủ nhất các hóa chất cần sử dụng:

- a. SDS, chloroform, phenol pH4, isopropanol, ethanol, Tris, EDTA, nước cất 2 lần khử trùng.  
 (b) SDS, chloroform, phenol pH8, isopropanol, ethanol, Tris, EDTA, nước cất 2 lần khử trùng  
 c. SDS, chloroform, phenol pH8, ethanol, NaCl, tris, EDTA, nước cất 2 lần khử trùng  
 d. Trizol, chloroform, ethanol, isopropanol, tris, EDTA, DEPC, nước cất 2 lần khử trùng.

Câu 6. Trong quá trình tách chiết RNA toàn phần từ *E. Coli*, tại sao cần phải bổ sung chloroform sau khi cho trizol vào mẫu?

- a. Chloroform có tác dụng loại bỏ dấu vết phenol trong trizol.  
 b. Chloroform giúp hỗ trợ biến tính protein.  
 c. Chloroform giúp phân lớp dung dịch.  
 (d) Tất cả lý do trên đều đúng.

Câu 7. Sinh viên Hương cần xác định nồng độ một mẫu RNA tinh sạch. Hương hòa 15  $\mu$ l RNA trong 45  $\mu$ l nước xử lý DEPC rồi đo OD<sub>260</sub>. Kết quả được OD<sub>260</sub> = 0,196. Nồng độ mẫu RNA Hương có là:

- a. 7,24  $\mu$ g/ml  
 (b) 31,36  $\mu$ g/ml  
 c. 9,8  $\mu$ g/ml  
 d. 39,2  $\mu$ g/ml

$$OD_{260} \cdot 40 \times HSPL = 0,196 \cdot 40 \cdot 4 = 31,36$$

Câu 8. Sinh viên Anh cần thực hiện phản ứng cắt giới hạn với enzyme *EcoRI* trong thể tích 40  $\mu$ l. Lượng DNA tối đa có thể thủy giải trong phản ứng này là bao nhiêu? Cho biết 1 unit enzyme thủy giải 1  $\mu$ g DNA, nồng độ enzyme là 2 unit/ $\mu$ l.

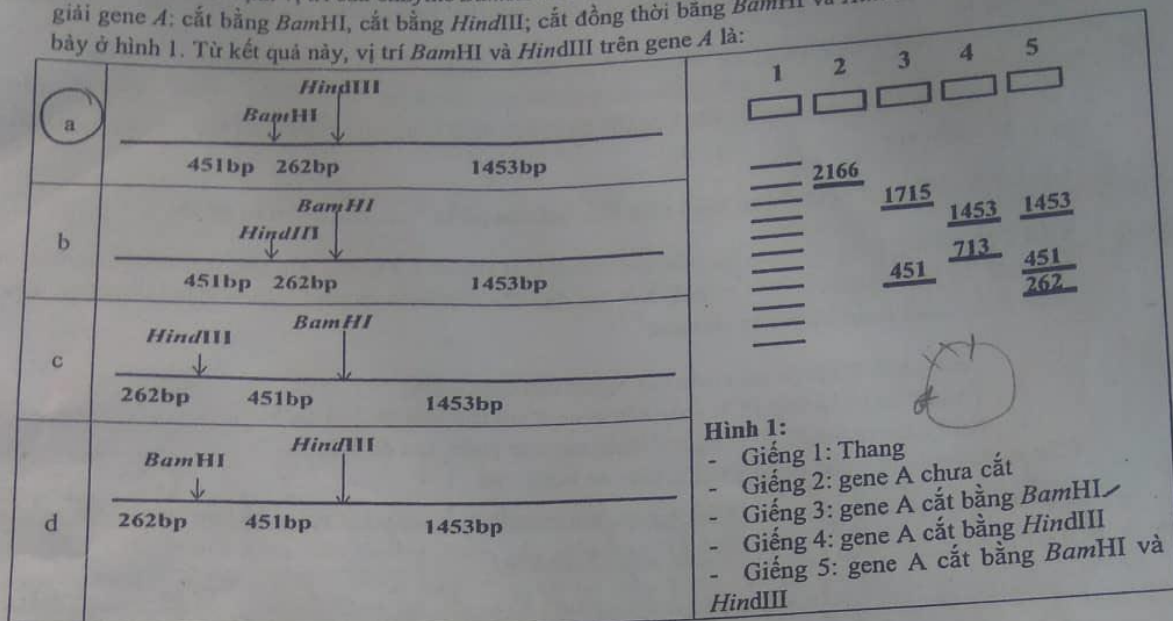
- (a) 8  $\mu$ g  
 b. 10  $\mu$ g  
 c. 4  $\mu$ g  
 d. 16  $\mu$ g

$$1 \text{ unit} \rightarrow 1 \mu\text{g}$$

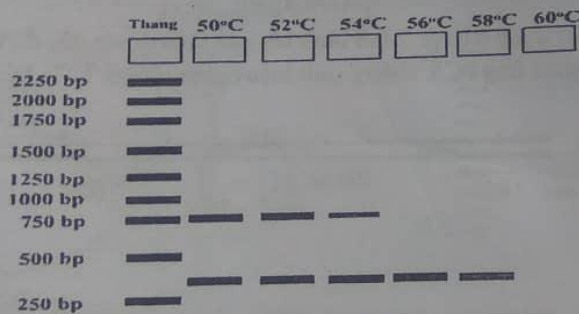
$$V = 40 \mu\text{l} \Rightarrow V_{\text{enzyme max}} = 40 \mu\text{l} \cdot 2 \text{ unit}/\mu\text{l} = 80 \text{ unit}$$

$$\Rightarrow \text{hoạt độ: } 80 \text{ unit} \rightarrow 8 \mu\text{g}$$

**Câu 9.** Để xác định vị trí của enzyme *Bam*HI và *Hind*III trên gene A, người ta thiết lập 3 phản ứng thủy giải gene A: cắt bằng *Bam*HI, cắt bằng *Hind*III; cắt đồng thời bằng *Bam*HI và *Hind*III. Kết quả được trình bày ở hình 1. Từ kết quả này, vị trí *Bam*HI và *Hind*III trên gene A là:



**Câu 10.** Một sinh viên tiến hành khảo sát phản ứng PCR với các nhiệt độ bắt cặp mỗi lần lượt như sau: 50°C, 52°C, 54°C, 56°C, 58°C, 60°C. Sau PCR, sản phẩm của các phản ứng được điện di và cho kết quả ở hình 2. Hãy cho biết nhiệt độ bắt cặp nào thích hợp cho phản ứng PCR này, biết sản phẩm mục tiêu dài 300 bp



**Hình 2**

- a. 50°C, 52°C và 54°C.  
b. 60°C.

c. 56°C và 58°C.

d. Có thể sử dụng tất cả các nhiệt độ.

**Câu 11.** Sinh viên Cúc thực hiện phản ứng PCR gồm các thành phần sau: dung dịch đệm, dNTP, MgCl<sub>2</sub>, Taq polymerase, môi, nước. Phản ứng này nhằm mục tiêu gì?

- a. Kiểm tra tình trạng dương tính giả  
b. Kiểm tra trình trạng âm tính giả  
c. Kiểm tra hiện tượng kí sinh  
d. Kiểm tra các tác nhân ức chế phản ứng PCR có trong mẫu

môi.  
dNTP.  
đệm. ⇒ chứng âm.  
MgCl<sub>2</sub>  
Taq polymerase.  
H<sub>2</sub>O

Đo OD  $\Rightarrow$   $\begin{cases} \text{nồng độ} \\ \text{độ tinh sạch} \end{cases}$

Điện di  $\Rightarrow$   $\begin{cases} \text{sự nguyên vẹn} \\ \text{sự nhiễm acid nucleic khác} \end{cases}$

Câu 12. Điền từ thích hợp vào chỗ trống. Để đánh giá chất lượng DNA sau khi tách chiết, sinh viên A tiến hành: (12.1)

- Đo OD ở bước sóng 260 nm và 280 nm để xác định (12.2) của mẫu
- (12.2) để xác định sự nguyên vẹn và
- Nếu mẫu sạch, nồng độ DNA có thể được xác định bằng cách lấy giá trị OD ở bước sóng 260 nm nhân với (12.4)

PHẦN 2: TỰ LUẬN (6 điểm) Sinh viên làm bài vào phần "....." trên đề thi

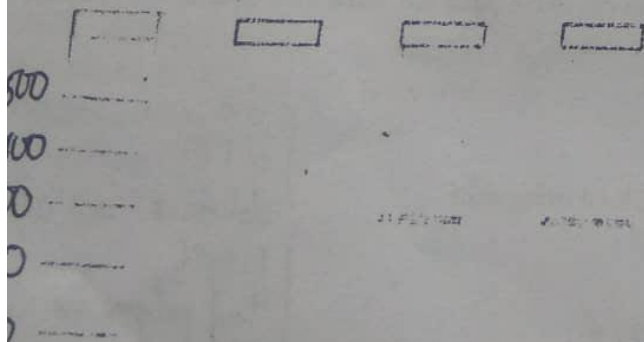
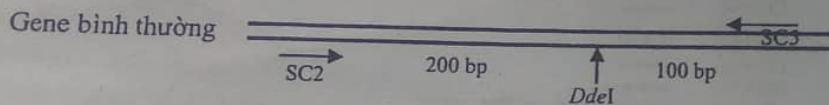
Câu 1 (3 điểm): Một đột biến lặn biến đổi codon CAC thành CTC, dẫn đến làm mất vị trí nhận biết của enzyme cắt giới hạn DdeI trên gene X. Kết quả dẫn đến một bệnh di truyền. Sinh viên Hồng thực hiện các bước chẩn đoán bệnh này như sau:

- Tách chiết DNA từ mẫu máu của người cần chẩn đoán
- Thực hiện phản ứng PCR nhân bản gene X với cặp mồi SC2 và SC5
- Xử lý sản phẩm PCR từ bước 2 bằng enzyme DdeI, sau đó điện di.

Câu a. Anh/chị hãy giải thích ý nghĩa của các bước trên.

Bước 1: Tách chiết DNA từ mẫu máu của người cần chẩn đoán để có được mẫu DNA phục vụ cho các bước thí nghiệm sau.  
 Bước 2: Nhân bản trình tự mục tiêu để có một lượng DNA mục tiêu đủ lớn cho các thí nghiệm enzyme & điện di sau này.  
 Bước 3: Xử lý bằng enzyme rồi điện di để xem gen có bị đột biến hay không

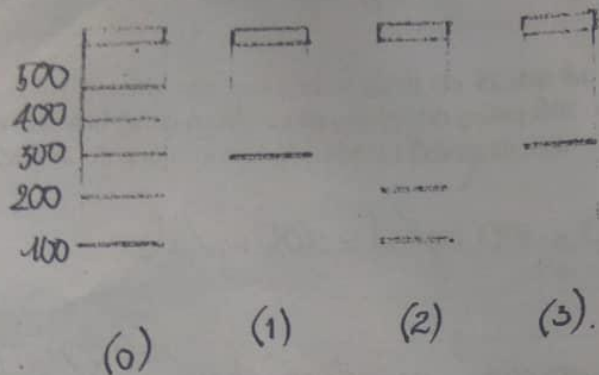
Câu b. Dự đoán kết quả đạt được ở bước 2 (vẽ hình kết quả điện di với đầy đủ mẫu chứng). Biết các hóa chất sử dụng đều tốt, phản ứng PCR không xuất hiện ngoại nhiễm, hoặc ký sinh



Giếng 0: thang 100 bp.  
 Giếng 1: chứng âm  
 Giếng 2: chứng dương  
 Giếng 3: sản phẩm PCR.

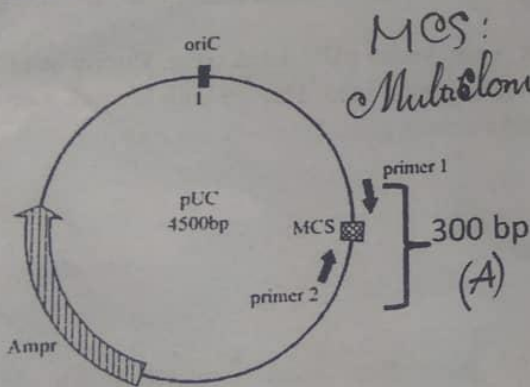
(0) (1) (2) (3)

Câu c. Dự đoán kết quả đạt được ở bước 3, trong trường hợp người khỏe mạnh (có kiểu gene đồng hợp trội và dị hợp), người bệnh (kiểu gene đồng hợp lặn) (vẽ hình kết quả điện di với đầy đủ mẫu chứng). Biết các hóa chất sử dụng đều tốt, phản ứng cắt xảy ra hoàn toàn.

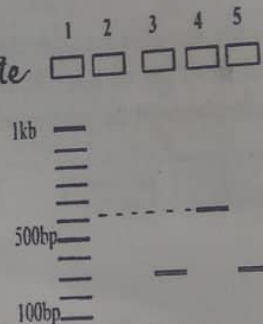


Giếng 0: thang 100 bp  
Giếng 1: đối chứng  
Giếng 2: mẫu người bình thường  
Giếng 3: mẫu người bị bệnh.

Câu 2 (3 điểm): Sinh viên Dương muốn gắn chèn gene A (300 bp) vào vector pUC. Dương sử dụng enzyme cắt giới hạn *EcoRI* để cắt gene và vector tại vùng MCS, sau đó nối gene A vào vector pUC bằng ligase. Sau khi biến nạp vector vào vi khuẩn, sinh viên A tìm kiếm dòng vi khuẩn mang vector tái tổ hợp bằng phương pháp PCR với hai primer được thiết kế như hình 3. Sau đó điện di, kết quả điện di thể hiện ở hình 4:



MCS:  
Multicloning site



- Giếng 1: Thang 100 bp
- Giếng 2: Phản ứng PCR không có DNA bản mẫu
- Giếng 3: phản ứng PCR với DNA bản mẫu là vector pUC
- Giếng 4: phản ứng PCR với DNA bản mẫu là DNA của khuẩn lạc 1
- Giếng 5: phản ứng PCR với DNA bản mẫu là DNA của khuẩn lạc 2

Hình 3

Hình 4

Câu a. Hãy phân tích kết quả điện di ở hình 4

Giếng 1: Thang có đầy đủ các vạch.  
Giếng 2: Chứng âm cho kết quả âm tính chứng tỏ không có hiện tượng ngoại nhiễm. Có đốm ở vùng < 100 bp chứng tỏ có primer dimer.  
Giếng 3: Chứng dương cho kết quả dương tính chứng tỏ hóa chất bình thường, môi trường hoạt động tốt.

- Giếng 4: có một vạch tại vị trí 600 bp, đó là sản phẩm dimer

- Giếng 5: có một vạch duy nhất tại vị trí 300 bp, đó là sản phẩm mục tiêu chứng tỏ sự chuyển gen thành công

Câu b. Hãy thiết lập phản ứng PCR (tổng thể tích 25  $\mu$ l) trong trường hợp của giếng 3 với nồng độ plasmid pUC là 10 ng, nồng độ mỗi là 50 nM. Biết phòng thí nghiệm đã có sẵn có dung dịch: master mix 2X (đã bao gồm taq polymerase,  $MgCl_2$ , dung dịch đệm, dNTP), hỗn hợp mỗi có nồng độ 25  $\mu$ M, dung dịch plasmid pUC có  $OD_{260}=0,2$

$$[plasmid\ pUC] = 0,2 \times 50 \times 10 = 100\ \mu g/ml = 100\ ng/\mu l$$

STT	Chất	nồng độ cung cấp	nồng độ cần dùng	V cần hút ( $\mu$ l)
1	Plasmid pUC	100 ng/ $\mu$ l	10 ng/ $\mu$ l	2,5
2	Môi	25 $\mu$ M	0,5 $\mu$ M	0,5
3	Nước			95
4	master mix	2X	1X	12,5

Câu c. Để kiểm tra một lần nữa sự gắn chèn gene A vào vector pUC thành công, Dương sau đó thiết lập phản ứng cắt plasmid pUC tái tổ hợp dự đoán bằng enzyme *EcoRI*. Hãy vẽ hình kết quả điện di sau khi thực hiện phản ứng cắt plasmid để chứng tỏ plasmid có mang gene A.

[Hình ảnh minh họa]

4800 bp

—HẾT—

300bp

**ĐỀ THI CHÍNH THỨC**  
**MÔN THỰC TẬP SINH HỌC PHÂN TỬ ĐẠI CƯƠNG**

Học kỳ I/2013-2014

Thời gian làm bài 75 phút – Không sử dụng tài liệu

Đề thi gồm 4 câu trong 2 trang

**CÂU 1 (1,5 điểm):** Trình bày cách pha 50 ml dung dịch TAE 50X. Biết rằng dung dịch này 1X gồm có Tris 20 mM, EDTA 10 mM, acetic acid 0,1% (v/v). Sau đó, hãy pha 500 ml dung dịch TAE 1X từ dung dịch TAE 50X này để sử dụng cho điện di.

Biết rằng: khối lượng phân tử của Tris 121,14 g/mol; EDTA là 372,24 g/mol; cân phân tích có độ chính xác 0,0001 g.

**CÂU 2 (4,5 điểm):** Sinh viên D tách chiết RNA từ tế bào ung thư người bằng 2 qui trình A và B. Kết quả đo OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> của 2 mẫu RNA tách chiết từ 2 qui trình là: qui trình A (2,55/1,30); qui trình B (1,68/0,91)

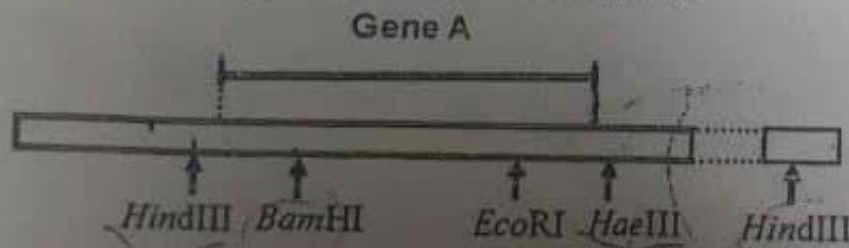
(a) Nếu dựa trên chất lượng RNA tách chiết được để đánh giá hiệu quả tách chiết của qui trình và nhằm chọn qui trình tốt nhất, anh/chị hãy cho biết những chỉ tiêu nào cần quan tâm và phương pháp đánh giá chỉ tiêu đó.

(b) Sinh viên D kết luận « Cả hai qui trình A và B đều sử dụng tốt cho tách chiết RNA từ tế bào ung thư người ». Anh/chị hãy cho biết kết luận này có chính xác chưa? Giải thích.

(c) Hãy thiết lập qui trình tách chiết RNA từ tế bào ung thư người, biết phòng thí nghiệm có các hóa chất sau: Trizol (với phenol pH8), Trizol (với phenol pH4), SDS, Phenol pH4, Phenol pH8, Chloroform, Ethanol 100%, Isopropanol 100%, chất DEPC, nước cất hai lần.

**CÂU 3 (2 điểm):** Nhằm tạo một vector tái tổ hợp mang gene A, sinh viên L thu nhận gene A từ DNA bộ gene bằng cách sử dụng enzyme cắt giới hạn. Biết:

- Sơ đồ vị trí cắt giới hạn của gene A như hình:



≠ hàng