

PCR 自测题

一、名词解释

1. PCR
2. 变性
3. 退火
4. 延伸
5. 逆转录 PCR
6. 停滞效应
7. 共享引物 PCR
8. 多重 PCR
9. 反向 PCR
10. 原位 PCR
11. LCR

二、单项选择题

1. PCR 反应中，所设计引物的长度一般为（ ）
A. 5~10 核苷酸 B. 15~30 核苷酸 C. <50 个核苷酸 D. 长度任意
E. 以上答案均不对
2. 引物设计时 G+C 含量在引物中一般占（ **c** ）
A. 20~40% B. 30~60% C. 45~55% D. 越高越好 E. 含量随意
3. 以下说法错误的是（ **e** ）
A 引物中的碱基组成应该尽可能的随机分布。
B 引物自身不应该存在互补序列
C 设计引物时应考虑使 3'端引物和 5'端引物具有相似的 Tm 值
D 引物的 5'和 3'端必须和模板严格配对结合
E 引物与非特异扩增区的序列的同源性不要超过 70%
4. 下列说法正确的是（ ）

- C. PCR反应常用的缓冲液为 10—50mmol/L 的 Tris-HCl (室温 PH 8.3—8.8)
- D. 10mmol/L 的 KCl 能促进引物的退火
- E. 加入的 BSA 有利于破坏模板的二级结构
- F. 二甲基亚砷有利于保护 TaqDNA 酶的活性。
- E. Mg^{2+} 能降低 Taq DNA 聚合酶的活性。
5. TaqDNA 聚合酶活性需要以下哪种离子 (c)
- A. K^{+} B. Na^{+} C. Mg^{2+} D. Ca^{2+} E. Cl^{-}
6. 适用于 DNA 序列中单个碱基突变的检测的方法是: (d)
- A. 筑巢 PCR B. 多重 PCR C. 锚定 PCR D. LCR
7. 以下哪种 PCR 技术广泛应用于组织胚胎学和肿瘤学的研究 (a)
- A. 原位 PCR B. 差异显示 PCR C. 不对称 PCR D. 反向 PCR
8. 已知一段设计好的引物的序列为 GTGGATCCATGGCTCCTCTGAAGATTC,其 T_m 值为 ()
- A. 78 B. 80 C. 82 D. 84 E. 无法计算
9. 以下哪种 PCR 技术可以克服序列未能全知的障碍而获取目的扩增片段 (c)
- A. 共享引物 PCR B. 不对称 PCR C. 锚定 PCR D. 筑巢 PCR
10. 一位疑似杜氏肌营养不良症的患者,可以采用以下哪种方法协助诊断 ()
- A. 原位 PCR B. 多重 PCR C. 不对称 PCR D. 锚定 PCR
11. 以下关于 dNTP 的说法错误的是 (e)
- B. dNTP 具有较强的酸性,使用时应将 pH 调至 7.0-7.5
- C. PCR 反应中,四种 dNTP 必须按比例配制,以减少反应的错配率。
- D. dNTP 的浓度过高会增加碱基的错配率
- E. dNTP 的浓度低,反应速度下降,但特异性提高
12. TaqDNA 聚合酶可以不要模板在 ds DNA 的末端加上一个()碱基.
- A. dGTP B. dCTP C. dATP D. dTTP
13. 有关 PCR 的描述哪个不对(d)

A. 是一种酶促反应

B. 引物决定扩增的特异性

C. 扩增的对象是 DNA 序列

A) D. 扩增的对象是氨基酸序列

14. 催化 PCR 的酶是 (c)

A. RNA 聚合酶

B. DNA 聚合酶

C. Taq DNA 聚合酶

D. 反转录酶

15. PCR 产物具有特异性是因为(c)

A. Taq DNA 酶保证了产物的特异性

B. 合适的变性,退火,延伸温度

C. 选择特异性的引物

D. 引物的 T_m 值不同.

16. LCR 的说法正确的是 ()

A. 体系中采用DNA 聚合酶

B. 须设计一对引物

C. 反应需经过变性,复性,连接

D. LCR 中,酶将 dNTP 加到引物的 3-OH 端

E. LCR 具有高度敏感性

三、多项选择题

1. 下列关于退火温度说法正确的是 ()

A. 合适的退火温度应低于引物 T_m 值 5°C 左右。

B. 引物与模板的退火温度一般在 $45-55^{\circ}\text{C}$ 之间

C. 在 T_m 值允许的范围内, 选择偏低的退火温度可以提高 PCR 反应的特异性。

D. 退火时间至少需要一分钟。

2. 进行 PCR 实验时以下措施有助于防止污染和结果的假阳性 ()

- B 隔离不同的操作区
 - C 分装试剂，减少重复取样所致的污染
 - D 严格实验操作
 - E 设立实验对照
3. 适用于扩增 3'或 5'端未知序列的 PCR 技术是（ ）
- A. 反向 PCR B. 锚定 PCR C. 多重 PCR D.不对称 PCR
4. 以下关于 PCR 技术应用说法正确的是（ ）
- B 筑巢PCR和共享引物PCR有利于增强 PCR反应的特异性，适用于模板含量极少的样品的检测
- C 不对称 PCR 可以大量制备单链DNA，可用于 DNA 的序列测定
- D 彩色 PCR 适用于基因诊断和自动化DNA 序列测定
- E 定量 PCR 可用于基因表达和调控的研究
- F 差异显示 PCR 可用于筛选和克隆受发育，突变等各种因素影响下差异表达的基因
5. 关于引物设计说法正确的是（ ）
- B 为保证 PCR 反应的特异性，所设计的引物长度一般>30 个核苷酸
- C 引物设计时 G+C 含量在引物中一般为 45~55 %
- D 按经验，引物自身存在的连续互补序列一般不超过 3 个碱基
- E 两个引物之间不应存在互补序列，尤其避免 3'端的互补重叠
- F 引物的 3'端可以游离而不影响 PCR 反应的进行
6. 以下关于 PCR 的说法正确的是（ ）
- A PCR 的模板可以是 DNA 也可以是 RNA
- B PCR的模板必须从组织细胞中分离出来
- C PCR反应的特异性取决于引物和模板 DNA 的结合位点。
- D PCR 反应初期，目的 DNA 片断的增加呈指数扩增。
- E PCR 反应一般需要含 10^2-10^5 拷贝的模板
7. 以下关于 PCR 反应条件错误的是（ ）

B PCR缓冲液中加入二甲基亚砷有利于破坏模板的二级结构，提高反应的特异性。

C Mg浓度过高会降低 TaqDNA酶的活性，Mg浓度过低又会使酶催化非特异性扩增增强。

D 4种 dNTP 应以等摩尔浓度配制，以减少错配误差。

E 引物浓度一般为 0.5-1umol/L

8. PCR 反应时应设立哪种对照（ ）

A. 阴性对照

B. 阳性对照

C. 试剂对照

D. 以上答案都正确

9. 逆转录反应体系包括（ ）

B. RNA 模板，四种 dNTP

C. RNA 酶抑制剂

D. 合适的缓冲液体系

E. 逆转录酶

F. 寡聚胸腺嘧啶核苷酸引物

10. 有关 PCR 的模板说法正确的是（ ）

A. 模板可以是 DNA 也可以是 RNA

B. 大多数 PCR 反应中对 DNA 模板纯度要求不高

C. 模板用量低

D. 标本处理的基本要求是除去杂质

11. 以下有关 RT-PCR 反应的说法你认为正确的有()

A. 反应体系一般有 20 μ l

B. 反应体系中有缓冲液, 四种 dNTP, $MgCl_2$, DTT, 牛血清白蛋白, Oligo(dT) 引物 RNA 模板和逆转录酶

C. 逆转录于 42℃ 进行,随后即进行 PCR

D. RT-PCR 的最终反应过程依然是以 DNA 为模板的 PCR 反应

12. PCR 的产物累积的特征是()
- B. 反应初期,目的 DNA 片断呈指数扩增
 - C. PCR 进行到一定时间出现反应中的停滞效应
 - D. 到达平台期的 PCR 循环数取决于反应体系中酶的耗竭程度
 - E. PCR 平台期的出现多数不可避免
 - F. 到达平台期时若扩增目的 DNA 片断不足,可继续加入模板,酶和缓冲液进行 PCR 反应
13. 有关 Mg^{2+} 在 PCR 中的作用说法不正确的是()
- A. Taq DNA 酶的活性维持需要 Mg^{2+}
 - B. Taq DNA 酶的活性与反应体系中的 Mg^{2+} 总浓度有关
 - C. Mg^{2+} 过低,酶催化非特异性扩增增加
 - D. Mg^{2+} 过高会降低酶的活性
 - E. 总量应低于 dNTP 的量,常用 1.5mmol/L
14. PCR 中使用的底物 dNTP 应该是()
- A. 使用前应将 pH 值调至 7.0-7.5
 - B. dNTP 浓度高可以加快反应速度,但却增加了出错率
 - C. 降低反应速度可以提高反应特异性
 - D. PCR 中,4 种 dNTP 必须按一定比例配制
 - E. Mg^{2+} 会与 dNTP 结合,应注意二者浓度之间的关系
15. Taq DNA 酶的特点是()
- A. 75-80℃ 时具有最高的聚合酶活性
 - B. 活性的维持需要 Mg^{2+} 的参与
 - C. Taq DNA 酶和 klenow 片断一样具有校正功能
 - D. Taq DNA 酶的忠实性很高
 - E. 具有类似末端转移酶的活性
16. 有关引物的说法正确的是()
- A. 引物浓度一般为 0.1-1.5 $\mu\text{mol/L}$
 - B. 引物与模板的比至少为 108:1

- C. 引物浓度过高会引起错配和非特异扩增,降低扩增效率
- D. 引物 T_m 值位于 $55-80^{\circ}\text{C}$ 较理想

17. PCR 反应温度应该是()

- A. 为使 DNA 变性完全,变性温度越高,时间越长越好
- B. 按模板 DNA 的复杂程度来调整变性温度和变性时间
- C. 于反应管中加入 1-2 μl 石蜡油防止反应液的蒸发
- D. 温度越高时间越长, dNTP 破坏增加,对 PCR 反应产生不利影响

18.有关退火温度正确的是()

- A. 引物与模板退火温度一般在 $45-55^{\circ}\text{C}$
- B. 退火温度过低,使非特异扩增增加
- C. 退火温度过高, PCR 扩增含量下降
- D. 退火时间一般为 1-2 分钟
- E. T_m 值的允许范围内,应该选择较低的退火温度

19.延伸温度应有如下特点()

- A. 一般为 72°C
- B. PCR 延伸时间越长, 产物的得率越高
- C. Taq DNA 酶在延伸温度时有较高的酶活性
- D. PCR 延伸时间根据待扩增片断的长度而定

20.PCR 循环次数设定时应注意()

- B. 应由最初靶分子浓度而定
- C. 理论上 20-25 个循环后, PCR 产物累积达最大值
- D. PCR 的循环次数一般为 25-30 次
- E. 循环次数过多时会引起停滞效应

21.PCR 样品制备时应注意()

- B. 应有专门的区域制备模板
- C. 提取 DNA 样品和 RNA 样品时要带手套且经常更换
- D. 纯化样品对污染有极大的影响
- E. 普通分子克隆工具不能用做样品的处理和靶序列

F. 提取核酸所用的试剂要求新鲜配制或者适当储存未经使用的试剂.

22.操作中应该注意()

- A. 使用的溶液应该没有核酸,核酸酶
- B. 试剂水都是高质新鲜蒸馏水
- C. 工具(枪头,试管) 都是一次性并且高压灭菌
- D. 应有专门的操作区
- E. 试剂应该分装保存

23. PCR 反应总为阴性时应该()

- A. 增加 Taq DNA 酶的浓度
- B. 增加靶 DNA 的量
- C. 增加扩增循环或者降低退火温度
- D. 提纯样品
- E. 取 $10\ \mu\text{l}$ 扩增液再行PCR

24. PCR 反应出现非特异产物时,应该采取的措施是()

- A. 增加退火温度
- B. 降低 Taq DNA 酶浓度
- C. 减少退火及延伸时间
- D. 减少引物浓度
- E. 减少扩增循环次数

25.PCR 可以广泛应用于()

- A. 遗传性疾病的基因诊断
- B. 检测癌基因
- C. 检测病原微生物
- D. 法医鉴定
- E. DNA 序列测定

26.对 RNA 的体外扩增过程,描述正确的是()

- A. 分为循环相和非循环相
- B. 也具有变性,复性,延伸三步

- C. 反应体系中含有dNTP 和 NTP 两种类型的核苷酸
- D. 反应中含有两种特异性引物
- E. 待测RNA 作为模板进入循环相

27.RNA-PCR 技术的特点为()

- A. 扩增效率高
- B. 扩增时间短
- C. 特异性不强
- D. 需严防 DNA 的污染

28.下列说法错误的是()

- C. RNA-PCR 中, 非循环反应与循环反应不处在同一反应体系
- D. RNA-PCR 中, 扩增产物以 2 的指数递增
- E. 反应温度一般为 37-42℃, 时间一般为 30 分钟到 1 小时
- F. RNA-PCR 需采用 25 个循环达到需要量
- G. 依赖于逆转录酶, RnaseH 和 T7RNA 聚合酶共同作用

29. 利用 PCR 技术测序有下列哪几种方法()

- A. 双链直接测序
- B. 基因扩增转录测序
- C. 不对称 PCR 产生单链测序
- D. 双链克隆后测序

四、填空题

1. PCR 反应体系含有____, _____, _____, _____。
2. PCR 反应的基本过程为_____。
3. 引物与模板的退火温度一般为____, 延伸温度一般为____
4. PCR 循环次数一般设定为____, 过多的循环次数会导致_____的出现。
- 5._____, _____, _____可用于 LCR 产物的检测。
6. 引物 3 端最佳碱基选择是_____和_____。
7. PCR 的标本处理的基本要求是_____

8. PCR 的反应体系一般选用_____。
9. PCR 反应的缓冲液提供了 PCR 反应_____与_____常用的为_____
10. PCR 的反应体系中， Mg^{2+} 的浓度一般保持在_____,常用的是_____
11. TaqDNA 聚合酶具有_____, 缺乏_____因此无_____。
12. 在变性过程中，为防止反应液的蒸发，可在反应管中加入_____
13. PCR 反应时应设立以下实验对照：____, __, ____.
14. 定量 PCR 必须设立_____

五、简答题

- 1、简述 PCR 反应的基本步骤。
- 2、简述 PCR 模板的种类及制备方法。
- 3、简述 PCR 产物的积累规律。
- 4、简述 PCR 的基本反应。
- 5、简述 PCR 实验应注意的事项。
- 6、简述连接酶链反应的基本原理。
- 7、简述 RNA 体外扩增的特点。

六、论述题

- 1、试述 PCR 的基本原理及引物设计原则。
- 2、试述 PCR 技术的特点。
- 3、试述 PCR 反应条件的优化。
- 4、试述 PCR 的主要类型及其工作原理。

参考答案及题解

一、名词解释

- 1、**PCR**: 即聚合酶链式反应。在模板，引物，4 种 dNTP 和耐热 DNA 聚合酶存在的条件下，特异性地扩增位于两段已知序列之间的 DNA 区段地酶促合成反应。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：
<https://d.book118.com/247124104114006060>