

**Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Institutt for Biologi**



EKSAMENSOPPGAVE I BI2015 – Molekylærbiologi laboratoriekurs

Faglig kontakt under eksamen: Anders Øverby og Bjørnar Sporsheim

Tlf.: 99 77 84 90 og 93 03 30 45

Eksamensdato: 20. desember, 2012

Eksamenstid: 09.00-13.00

Studiepoeng: 7,5

Tillatte hjelpemidler: Ingen

Språkform: Bokmål

Antall sider bokmål: 3

Antall sider nynorsk: 3

Antall sider vedlegg: 2

Sensurdato: 18. januar, 2013

Vekting av oppgaver:

Oppgave 1: 25 %, a teller 20 %, b teller 5 %

Oppgave 2: 25 %, a teller 15 %, b og c teller hver 5 %

Oppgave 3: 25 %, a teller 10 %, b teller 15 %

Oppgave 4: 25 %, a teller 5 %, b teller 20 %

Besvarelse kan gis på norsk eller engelsk.

Oppgave 1 (25 %, a teller 20 %, b teller 5 %)

a)

En PCR-syklus består av 3 trinn. Fyll inn informasjon om disse trinnene i tabellen under (tegn en tilsvarende tabell i besvarelse, ikke levér inn ark fra oppgavesett).

Trinn	Navn	Hva skjer?	Temp	Tid	Komponenter som inngår i trinnet	Hvordan kan tid/temp tilpasses?
1						
2						
3						

b)

Hva menes med positiv- og negativ kontroll i eksperimentell sammenheng og hvilket formål har slike kontroller? Gi ett eksempel på dette fra laboratoriekurset.

Oppgave 2 (25 %, a teller 15 %, b og c teller hver 5 %)

a)

Grei ut om GFP og anvendelsesområdene til GFP.

b)

Nevn 5 egenskaper en ekspresjonsvektor bør inneholde.

c)

Hva er likhetene og ulikhetene mellom SDS-PAGE og isoelektrisk fokusering?

Oppgave 3 (25 %, a teller 10 %, b teller 15 %)

Du får utdelt en skål med kolonier på LB-agar/amp medium som har blitt inkubert ved 37 °C over natt direkte påfølgende heat shock transformering.

a)

Hva menes med verifisering av transformanter og forklar trinnvis (flytskjema) hvordan du ville gått frem for å verifisere i dette tilfellet.

b)

Transformantene på plate fra del a) ble heat shock transformert med et plasmid som uttrykker genet *dta*. *dta* koder for det toksiske proteinet DTA. *dta* er satt under kontroll av promotoren P_{dta} som er induserbar av sukkeret trehalose.

Ta utgangspunkt i utlevert materiale fra del a) og foreslå en fremgangsmåte/strategi for å produsere så mye som mulig av proteinet DTA. Foreslå hvordan proteinet kan renses.

Oppgave 4 (25 %, a teller 5 %, b teller 20 %)

Regulatorprotein p53 spiller en sentral rolle i regulering av cellyklus i humane celler. Mutasjoner i enkelte regioner av p53 kan lede til tap av kontrollert cellyklus, og har blitt vist å være de mest forekommende mutasjoner i kreftceller. Et eksempel er mutasjon i kodonet for Arg248 som erstatter denne residuen i p53 med tryptofan, som resulterer i en redusert evne til å binde til DNA. Mer spesifikt, kodonet som koder for Arg248 (CGG) muteres til å kode for Trp248 (TGG).

I vedlegg 1 er DNA-sekvens som koder for p53. Uthevet område på 20 basepar angir forward primer. Uthevet "CGG" angir kodon for Arg248.

a)

Grei ut om primer i molekylærbiologisk sammenheng (tilpass omfang etter vekting).

b)

Angi DNA-sekvens for revers primer(e) som er i stand til å påvise om en celledns har mutert fra Arg248 til Trp248 eller ikke ved hjelp av PCR og gelelektroforese. Begrunn svaret.

Noregs teknisk-naturvitskaplege universitet
Institutt for Biologi



EKSAMENSOPPGÅVE I BI2015 – Molekylærbiologi laboratoriekurs

Fagleg kontakt under eksamen: Anders Øverby og Bjørnar Sporsheim

Tlf.: 99 77 84 90 og 93 03 30 45

Eksamensdato: 20. desember, 2012

Eksamenstid: 09.00-13.00

Studiepoeng: 7,5

Tillate hjelpemiddel:

Språkform: Nynorsk

Sidetal bokmål: 3

Sidetal nynorsk: 3

Sidetal vedlegg: 2

Sensurdato: 18. januar, 2013

Vekting av oppgåver:

Oppgåve 1: 25 %, a tel 20 %, b tel 5 %

Oppgåve 2: 25 %, a tel 15 %, b og c tel kvar 5 %

Oppgåve 3: 25 %, a tel 10 %, b tel 15 %

Oppgåve 4: 25 %, a tel 5 %, b tel 20 %

Svar kan gjevast på norsk eller engelsk.

Oppgåve 1 (25 %, a tel 20 %, b tel 5 %)

a)

Ein PCR-syklus er sett saman av 3 trinn. Fyll inn informasjon om desse trinna i tabellen under (teikn ein tilsvarande tabell i oppg vesvaret, ikkje levér inn ark fr  oppg vesett).

Trinn	Namn	Kva skjer?	Temp	Tid	Komponentar som inngår i trinnet	Korleis kan tid/temp tilpassast?
1						
2						
3						

b)

Kva meinast med positiv og negativ kontroll i eksperimentell samanheng og kva for eit formål har slike kontrollar? Gje eitt døme på dette fr  laboratoriekurset.

Oppgåve 2 (25 %, a tel 15 %, b og c tel kvar 5 %)

a)

Grei ut om GFP og bruksomr da til GFP.

b)

Nemn 5 eigenskapar ein ekspresjonsvektor bør innehalde.

c)

Kva er likskapane og ulikskapane mellom SDS-PAGE og isoelektrisk fokusering?

Oppgåve 3 (25 %, a tel 10 %, b tel 15 %)

Du får utdelt ei skål med koloniar på LB-agar/amp medium som har vorte inkubert ved 37  C over natt direkte påfølgjande heat shock transformering.

a)

Kva meinast med verifisering av transformantar og forklar trinnvis (flytskjema) korleis du ville gått fram for   verifisere i dette tilfellet.

b)

Transformantane på plate frå del a) vart heat shock transformert med eit plasmid som uttrykker genet *dta*. *dta* kodar for det toksiske proteinet DTA. *dta* er satt under kontroll av promotoren P_{dta} som er induserbar av sukkeret trehalose.

Ta utgangspunkt i utlevert materiale frå del a) og foreslå ein framgangsmåte/strategi for å produsere så mykje som mogleg av proteinet DTA. Foreslå korleis proteinet kan reinsast.

Oppgåve 4 (25 %, a tel 5 %, b tel 20 %)

Regulatorprotein p53 spelar ei sentral rolle i regulering av cellesyklus i humane celler. Mutasjonar i einskilde regionar av p53 kan lede til tap av kontrollert cellesyklus, og har vorte vist å ofte vere tilstades i kreftceller. Eit døme er mutasjon i kodonet for Arg248 som erstattar denne residuen i p53 med tryptofan, som resulterer i ei redusert evne til å binde til DNA. Meir spesifikt, kodonet som kodar for Arg248 (CGG) muterast til å kode for Trp248 (TGG).

I vedlegg 1 er DNA-sekvens som kodar for p53. Utheva område på 20 basepar angjev forward primer. Uthevet "CGG" angjev kodon for Arg248.

a)

Grei ut om primer i molekylærbiologisk samanheng (tilpass omfang etter vekting).

b)

Angje DNA-sekvens for revers primer(e) som er i stand til å påvise om DNA til ei celle har mutert frå Arg248 til Trp248 eller ikkje ved hjelp av PCR og gelelektroforese. Grunnge svaret.

Vedlegg 1

LOCUS NM_000546 2591 bp mRNA linear PRI 29-AUG-2012
DEFINITION Homo sapiens tumor protein p53 (TP53), transcript variant 1, mRNA.
ACCESSION NM_000546
VERSION NM_000546.5 GI:371502114
SOURCE Homo sapiens (human)
ORGANISM [Homo sapiens](#)
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini;
Catarrhini; Hominidae; Homo.
PUBMED [21112961](#)
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..2591
/organism="Homo sapiens"
/mol_type="mRNA"
/db_xref="taxon:[9606](#)"
/chromosome="17"
/map="17p13.1"
[gene](#) 1..2591
/gene="TP53"
/gene_synonym="BCC7; LFS1; P53; TRP53"
/note="tumor protein p53"
/db_xref="GeneID:[7157](#)"
/db_xref="HGNC:[11998](#)"
/db_xref="HPRD:[01859](#)"
/db_xref="MIM:[191170](#)"
[CDS](#) 203..1384
/gene="TP53"
/gene_synonym="BCC7; LFS1; P53; TRP53"
/note="isoform a is encoded by transcript variant
cellular tumor antigen p53; phosphoprotein p53;
transformation-related protein 53; p53 tumor
suppressor;
antigen NY-CO-13"
/codon_start=1
/product="cellular tumor antigen p53 isoform a"
/protein_id="[NP_000537.3](#)"
/db_xref="GI:120407068"
/db_xref="CCDS:[CCDS11118.1](#)"
/db_xref="GeneID:[7157](#)"
/db_xref="HGNC:[11998](#)"
/db_xref="HPRD:[01859](#)"
/db_xref="MIM:[191170](#)"

/translation="MEEPQSDPSVEPPLSQETFSDLWKLLPENNVLSPLPSQAMDDL
LSPDDIEQWFTEDPGPDEAPRMPPEAAPPVAPAPAAPTAPAAPAPAPSWPLSSSVPSQKT
YQGSYGFRLGFLHSGTAKSVTCTYSPALNKMFCQLAKTQPVQLWVDSTPPPGTRVRAM
AIYKQSQHMTEVVRRCPPHHERCSDSDGLAPPQHLIRVEGNLRVEYLDDRNTFRHSVVV
PYEPPEVGSDCSTTIHYNMCMSSCMGMNRRPILTIITLEDSSGNLLGRNSFEVRVCA
CPGRDRRTEENLRKKGEPHHELPPGSTKRALPNNTSSSPQPKKKPLDGEYFTLQIRG
RERFEMFRELNEALELKDQAGKEPGGSRAHSSHLKSKKGQSTSRHKKLMFKTEGPDS
D"
1 atggaggagc cgcagtcaga tcctagcgtc gagccccctc tgagtcagga aacatthtca
61 gacctatgga aactacttcc tgaaaacaac gttctgtccc ccttgccgtc ccaagcaatg
121 gatgatttga tgctgtcccc ggacgatatt gaacaatggt tcaactgaaga cccaggtcca

181 gatgaagctc ccagaatgcc agaggctgct ccccccgtgg ccctgcacc agcagctcct
241 acaccggcgg cccctgcacc agccccctcc tggcccctgt catcttctgt cccttcccag
301 aaaacctacc agggcagcta cggtttccgt ctgggettct tgcattctgg gacagccaag
361 tctgtgactt gcacgtactc cctgcctc aacaagatgt tttgccaact ggccaagacc
421 tgcctgtgc agctgtgggt tgattccaca cccccgccg gcacccgcgt ccgcgccatg
481 gccatctaca agcagtcaca gcacatgacg gaggttgtga ggcgctgcc ccaccatgag
541 cgctgctcag atagcgatgg tctggc**ccct cctcagcatc ttatcc**gagt ggaaggaaat
601 ttgcgtgtgg agtatttggg tgacagaaac acttttcgac atagtgtggg ggtgccctat
661 gagccgcctg aggttggctc tgactgtacc accatccact acaactacat gtgtaacagt
721 tcctgcatgg gcggcatgaa **cgggaggccc** atcctacca tcatcacact ggaagactcc
781 agtggtaatc tactgggacg gaacagcttt gaggtgcgtg tttgtgcctg tcctgggaga
841 gaccggcgca cagaggaaga gaatctccgc aagaaagggg agcctacca cgagctgcc
901 ccagggagca ctaagcgagc actgcccaac aacaccagct cctctcccca gccaaagaag
961 aaaccactgg atggagaata tttcaccctt cagatccgtg ggcgtgagcg cttcgagatg
1021 ttccgagagc tgaatgaggc cttggaactc aaggatgcc aggctgggaa ggagccaggg
1081 gggagcaggg ctcaactccag ccacctgaag tcaaaaagg gtcagtctac ctcccgccat
1141 aaaaaactca tgttcaagac agaagggcct gactcagact ga