

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Institutt for biologi

EKSAMENSOPPGAVE I BI3013 – EKSPERIMENTELL CELLE- OG MOLEKYLÆRBIOLOGI

Faglig kontakt under eksamen: Ishita Ahuja

Tlf.: 99519978

Eksamensdato: 7. desember 2012

Eksamenstid: 4 timer

Studiepoeng: 7.5

Tillatte hjelpemidler: ingen

Språkform: bokmål

Antall sider bokmål: 2

Sensurdato: 7. januar 2013

OPPGAVENE 1, 2, 3, OG 4 TELLER LIKT. LEGG MERKE TIL AT DELSPØRSMÅL UNDER OPPGAVENE 1, 2, 3, OG 4 KAN VEKTES FORSKJELLIG (ANGITT I %). VENNLIIGST BESVAR HVER OPPGAVE (1,2,3,4) PÅ NYTT ARK!

Oppgave 1.

I laboratorieøvelsene lærte du å isolere RNA fra plantemateriale og kvantifisere genuttrykket ved kvantitativ RT-PCR (qPCR). Basert på den kunnskapen du har fått i løpet av disse øvelsene, skal du svare på følgende spørsmål:

- (a) Før vi kan utføre en mikroarray genekspressjonsanalyse, må vi sjekke kvaliteten på RNA. Hvilke instrumenter blir brukt for å sjekke kvaliteten på RNA eller måle RNA konsentrasjon? Hva er prinsippet bak funksjonen av disse instrumentene, og hvordan er de forskjellige fra hverandre i kvantifiseringen av DNA, RNA eller proteiner? (30 %)
- (b) Under laboratorieøvelser i de forskjellige gruppene, ble RNA isolert ved hjelp av Sigma og Qiagen kits, og RNA prøver ble utsatt for forskjellige behandlinger for å se om de hadde noen effekt på degradering av RNA. Navngi disse behandlingene. Forklar i detalj hvilken virkning to av disse behandlingene hadde på RNA degradering, og sammenlign resultatene av begge kits. (30 %)
- (c) Hva er Real-Time PCR (qPCR) og hvorfor det er nødvendig å gjøre qPCR? (15 %)
- (d) Forklar kort arbeidsflyten for kvantifisering av genuttrykk ved hjelp qPCR teknikk. (25 %)

Oppgave 2.

Neste generasjons sekvensering (NGS) teknologier har en rekke vellykkede applikasjoner og har erstattet Sanger-sekvensering.

- (a) Definer DNA-sekvensering. Hvorfor trenger vi å sekvensere genomer? (10 %)
- (b) Nevn forskjellige NGS plattformer. Forklar i detalj illumina sekvenseringsteknologi. (30 %)
- (c) Forklar forskjeller og likheter mellom NGS teknologier og Sanger-sekvensering teknologi? Nevn noen applikasjoner av NGS teknologier. (30 %)
- (d) Hva slags vitenskapelig erfaring fikk du fra dine besøk på sekvenseringslaboratoriet ved Institutt for biologi, og Genomics Core Facility, Laboratory Centre, St. Olav sykehus. Hvilken kunnskap har du fått om sekvensering (enten det er gamle Sanger-sekvensering teknologi eller relatert til NGS teknologier) fra disse besøkene? (30 %)

Oppgave 3.

Av såkalte “omics”-teknologier, er metabolomics en av teknologiene som er kommet etter transcriptomics og proteomics. Denne teknologien har utviklet seg som en verdifull teknologi for omfattende profilering og sammenligning av metabolitter i biologiske systemer, og en rekke applikasjoner for menneske-, mikrobielle- og plantesystemer har allerede blitt rapportert.

- (a) Gi en oversikt over arbeidstrinnene til metabolomics. (30 %)
- (b) Forklar target og ikke-target-analyse i MS-baserte metabolomics. (30 %)
- (c) Navngi fem metabolomic databaser og gi korte beskrivelser av disse. (20 %)
- (d) Forklar fordeler og ulemper ved GC-MS og LC-MS. (20 %)

Oppgave 4.

Forklar 4 av de 5 følgende ord og uttrykk (ikke mer enn 400 ord for hver).

- (a) Isothiocyanater (25 %)
- (b) Celleadhesjon (25 %)
- (c) Synovial cellelinje SW982 (25 %)
- (d) SDS-polyakrylamidgel (25 %)
- (e) Blotting (25 %)

EXAMINATION IN BI3013 – EXPERIMENTAL CELL AND MOLECULAR BIOLOGY

Responsible contact during examination: Ishita Ahuja

Phone: 99519978

Date of examination: Dec 7th 2012

Time: 4 hours

Points: 7.5

Permitted aids: none

Language: English

No. of pages: 2

Grades to be announced on: January 7th 2013

NOTICE THAT QUESTIONS 1, 2, 3, AND 4 ARE WEIGHTED EQUALLY, BUT SINGLE QUESTIONS UNDER 1, 2, 3, OR 4 MIGHT BE WEIGHTED DIFFERENTLY (INDICATED IN %).

PLEASE START ANSWERING EACH QUESTION (1, 2, 3, and 4) ON A NEW SHEET OF PAPER.

Exercise 1

In your lab exercises you learnt how to isolate RNA from plant tissues and quantify gene expression by quantitative RT-PCR (qPCR). Based on the knowledge you gained during these exercises, answer following questions.

- (a)** Before we can proceed for microarray gene expression analysis, we need to check the quality of RNA. Which instruments are used to check the quality of RNA or measure RNA concentration? What are the principles behind functioning of these instruments and how they differ from each other in quantification of DNA, RNA or proteins? (30 %)
- (b)** During lab exercises by different groups the RNA was isolated using Sigma and Qiagen kits, and the RNA samples were exposed to different treatments to see if they had any effect on degradation of RNA. Name these treatments. Explain in detail how two of these treatments affected RNA degradation, while comparing the results from both kits. (30 %)
- (c)** What is Real-Time PCR (qPCR) and why there is need to do qPCR? (15 %)
- (d)** Briefly explain the workflow of quantification of gene expression using qPCR technique. (25 %)

Exercise 2

Next generation sequencing (NGS) technologies has an array of successful applications and has replaced Sanger sequencing.

- (a) Define DNA sequencing. Why we need to sequence genomes? (10 %)
- (b) Name different NGS platforms. Explain in detail the illumina sequencing technology. (30 %).
- (c) Explain the differences and similarities between NGS technologies and Sanger sequencing technology? Mention some of the applications of NGS technologies. (30 %)
- (d) What kind of scientific experience did you get from your visits to the Sequencing laboratory located at the Department of Biology, and Genomics Core Facility, Laboratory Centre, St. Olav hospital? What knowledge you gained about sequencing (whether it is old Sanger sequencing technology or related to NGS technologies) from these visits (30 %)

Exercise 3

Among the so-called “omic” technologies, metabolomics is one of the technologies that came after transcriptomics and proteomics. It has emerged as a valuable technology for profiling and comparison of metabolites in biological systems, and a multitude of applications for human, microbial and plant systems have already been reported.

- (a) Give an overview of metabolomics workflow. (30 %)
- (b) Explain target and non-target analysis in MS-based metabolomics. (30 %)
- (c) Name five metabolomics databases with brief descriptions. (20 %)
- (d) Explain the advantages and disadvantages of GC-MS and LC-MS. (20 %)

Exercise 4

Briefly explain 4 of the 5 following terminologies/words (not more than 400 words for each).

- (a) Isothiocyanates (25 %)
- (b) Cell adhesion (25 %)
- (c) Synovial cell line SW982 (25 %)
- (d) SDS-Polyacrylamide Gel (25 %)
- (e) Blotting (25 %)