

Institutt for Biologi

Eksamensoppgave i Bi3013

EKSPERIMENTELL CELLE- OG MOLEKYLÆRBIOLOGI

Faglig kontakt under eksamen:

Førsteamanuensis Per Winge

Tlf.: 99369359

Eksamensdato: 27. May 2015

Eksamenstid (fra-til): 09.00 til 13.00 (4 timer)

Hjelpemiddelkode/Tillatte hjelpemidler: Ingen

Annen informasjon: Ingen

Målform/språk: Bokmål

Antall sider: 3 (inkludert forside)

Antall sider vedlegg: 0

Kontrollert av:

Dato

Sign

Merk! Studenter finner sensur i Studentweb. Har du spørsmål om din sensur må du kontakte instituttet ditt. Eksamenskontoret vil ikke kunne svare på slike spørsmål.

NB! ALLE DE 4 HOVEDSPØRSMÅLENE TELLER LIKT (25%), MEN UNDERSPØRSMÅL KAN HA ULIK VEKT (OPPGITT I PROSENT). HVIS VEKTING IKKE ER OPPGITT TELLER UNDERSPØRSMÅL LIKT.

HVER AV OPPGAVENE (1-4) SKAL BESVARES PÅ NY SIDE.

Spørsmål 1.

Du ønsker å produsere en alge som har økt syntese av lipider og du har identifisert et gen X som du tror kan brukes til å øke lipid produksjonen.

- Forklar hvordan du vil transformere algen med en plasmid vektor som inneholder gen X slik at det blir uttrykt i algen. Ta utgangspunkt i teknikker benyttet under laboratoriekurset. (40 %)
- Hvordan vil du identifisere transformantene (alger som har tatt opp plasmidet med gen X)? (20 %)
- Beskriv en metode som kan benyttes for å sjekke om genet blir uttrykt i algen. Hvordan vil du isolere RNA og hvilke kvalitetskontroller av RNAet vil du benytte? Hvilken informasjon gir disse kvalitetstestene? (40 %)

Spørsmål 2.

Algen som uttrykker gen X, som du trodde kunne økt lipid produksjon, vokser svært dårlig og du ønsker å finne ut hvorfor uttrykket av dette genet påvirker celle veksten. Du bestemmer å gjennomføre en global genekspressjons analyse.

- Forklar hvordan du vil utføre et DNA mikromatrise forsøk hvor du ønsker å studere forskjellene i genuttrykk mellom alger som uttrykker gen X og normale ikke transformerte alger. Beskriv de ulike trinnene i analysen.
- Genekspressjon kan også analyseres ved storskala sekvensering (RNA-seq). Beskriv hvordan Illumina sekvenseringsteknologien fungerer og forklar hvorfor RNA-seq i dag ofte blir foretrukket fremfor mikromatrise studier.
- Metylering av DNA kan påvirke genekspressjonen. Forklar hvordan en kan identifisere metylerte nukleotider i DNA fra algen og bestemme hvor de er lokalisert i genomet.

Spørsmål 3.

Å analysere genuttrykket i algen gir ikke nødvendigvis svar på hvorfor den vokser dårligere og flere analyser kan være nødvendige.

- a. Beskriv en metode som kan benyttes til å finne og isolere proteiner som er høyere / lavere uttrykt i transformerte alger (uttrykker gen X) sammenlignet med de normale uttransformerte algene.
- b. Hvordan vil du identifisere disse proteinene med masse spektroskopi?
- c. Forklar hvordan du kan benytte Green fluorescent protein (GFP) for å studere intracellulær lokalisering av proteiner. Hvilken mikroskopi visualiserings teknikk vil du benytte, begrunn svaret.

Spørsmål 4.

- a. Beskriv hvordan CRISPR/Cas teknologien kan benyttes for å produsere gen-knockouts. Hva er fordelene med denne metoden sammenlignet med andre metoder?
- b. Gass kromatografi og masse spektrometri (GC/MS) er ofte benyttet ved analyse av flyktige forbindelser. Beskriv hvordan GC/MS og GC-MS/MS blir benyttet ved metabolitt analyser.

Bruk figurer der det passer for å illustrere og forklare svarene, (oppgave 1-4).