

Institutt for Biologi

Eksamensoppgave i Bi3013 Eksperimentell Celle og Molekylær Biologi

Faglig kontakt under eksamen: Per Winge

Tlf.: 99369359

Eksamensdato: 7. Desember 2016

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

Hjelpemiddelkode/Tillatte hjelpemidler: Ingen

Annen informasjon:

Målform/språk: Bokmål

Antall sider (uten forside): 2

Antall sider vedlegg:

Informasjon om trykking av eksamensoppgave

Originalen er:

1-sidig 2-sidig

sort/hvit farger

skal ha flervalgskjema

Kontrollert av:

Dato

Sign

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 har identifisert en unik transkripsjonsfaktor i kiselalgen *Phaeodactylum tricornutum* som ser ut til å være påvirket av fosfat mangel. For å finne ut mer av funksjonen til denne bestemmer du deg for å produsere en alge hvor transkripsjonsfaktoren er inaktivert.

- a. Beskriv en metode som kan bli brukt for å produsere en gen knockout av transkripsjonsfaktoren og forklar detaljert hvordan denne metoden fungerer.
- b. Hvordan vil du gå frem for å gjennomføre dette eksperimentet i *Phaeodactylum tricornutum*? Forklar transformasjonsmetoden og beskriv de ulike komponentene som blir brukt i transformasjonsprosedyren.
- c. Beskriv to metoder som kan bli brukt for å identifisere alge kolonier hvor transkripsjonsfaktoren har blitt inaktivert. Hvordan kan du være sikker på at genet har blitt inaktivert og hvordan kan du undersøke dette.

Spørsmål 2.

Du har produsert ulike gen knockouts av transkripsjonsfaktoren du mistenker er involvert i regulering av fosfat sult responser og du ønsker å finne ut mer av dens cellulære funksjoner.

- a. Beskriv hvordan en transkriptom analyse med DNA mikromatriser kan bli brukt for å studere gen regulatoriske defekter i de muterte algene. Forklar prinsippet for DNA mikromatrise metoden og skisser et eksperimentelt oppsett for et slikt eksperiment. (40 %)
- b. Forklar hvordan du vil isolere RNA til forsøket og hvilke kvalitetskontroller du vil gjennomføre. (40 %)
- c. Hva er ulempene med DNA mikromatrise metoden sammenlignet med DNA sekvensering baserte metoder? (20 %)

Spørsmål 3.

- a. Beskriv en metode som kan bli benyttet for å identifisere hvor i genomet transkripsjonsfaktoren har DNA binding seter.
- b. Hvordan kan du bestemme den cellulære lokaliseringen til transkripsjonsfaktoren? Forklar hvordan du vil gjennomføre et eksperiment som undersøker dette og beskriv hvilket utstyr du vil benytte.
- c. Du mistenker at transkripsjonsfaktoren er assosiert med ko-aktivatorer eller ko-repressorer. Beskriv en metode som kan bli brukt for å finne slike protein-protein interaksjoner.
- d. Hvordan vil du identifisere proteinene som blinder transkripsjonsfaktoren?

Spørsmål 4.

Forklar eller beskriv begrepene / teknikkene nedenfor. Bruk gjerne figur i forklaringen og svar kort (maks 200 ord pr. spørsmål).

- a. Bisulfitt sekvensering.
- b. Gass kromatografi and masse spektroskopi (GC/MS)
- c. Ikke-optisk DNA sekvensering (Ion Torrent)
- d. STED mikroskopi