

ML-208, generell informasjon**Emnekode:** ML-208**Emnenavn:** Molekylærbiologi**Dato:**20.12.2017**Varighet:**4 timer**Tillatte hjelpemidler:** Ingen**Merknader:**Lag gjerne tegninger og figurer for å illustrere og forklare besvarelsen i alle oppgavene. Bruk egne ark til dette som scannes/leveres. Informasjon om dette gis av eksamenspersonellet.

Det forekommer av og til spørsmål om bruk av eksamensbesvarelser til undervisnings- og læringsformål. Universitetet trenger kandidatens tillatelse til at besvarelsen kan benyttes til dette. Besvarelsen vil være anonym.

Tillater du at din eksamensbesvarelse blir brukt til slikt formål?**Velg et alternativ** Ja Nei

Besvart

Knytte håndtegninger til denne oppgaven?

Bruk følgende kode:

0 3 6 6 6 1 9**1 ML-208, oppgave**

Oppgave 1

Beskriv translasjon av mRNA til protein hos prokaryoter.

Skriv ditt svar her...

Translasjon av mRNA til proteiner skjer på ribosomene i cytoplasma. Ribosomene består av to subenheter, 30 S og 50 S. mRNA leses av i tre og tre baser, kalt kodon. tRNA bringer riktig aminosyre som dette kodonet koder for, ved å ha et antikodon som kan danne basepar med kodon på mRNA. Flere kodon kan hybridisere med samme tRNA, siden base nr 3. i antikodon kan danne basepar med mer en 1 annen base. Slik har man flere kodon som bruker samme tRNA (Wobler-mekanismen, flere kodon enn antall tRNA).

Translasjonen starter med av initieringsfaktor 1 og 3 binder seg til 30 S (se figur; viser initiering, elongering og terminering). Deretter hybridiserer 16 S RNA biten i 30 S, med Shine-Dalgarno sekvensen i mRNA som skal transleres. Dette gjør at ribosomet fester seg riktig med AUG (startkodon) plassert i P setet på ribosomet. Her kommer initierings tRNA ladet med aminosyren f. Met og antikodon hybridiserer med AUG-kodon. Dette er det eneste tRNA som kan plasseres i P-setet, alle andre tRNA fester seg i A setet. IF3 blokker A setet når tRNA med f. Met skal plasseres, og unngår slik at det festes i feil sete. IF1 hjelper med å holde mRNA/ribosom komplekset sammen. IF2 -GTP hjelper med å plassere tRNA ladet med f.Met i P setet, slik at AUG og antikodon på tRNA danner basepar. Ladingen av tRNA med rett aminosyre, skjer ved hjelp av en gruppe enzymer (aminocyl tRNA syntase) hvor hver av disse er spesifikke for hver aminosyre. Aminosyren danner kompleks med enzymet med hjelp av ATP. Dette komplekset reagerer med riktig tRNA for aminosyren, og man får kompleks med tRNA og tilhørende aminosyre. Enzymet løsner og kan brukes på nytt.

50 S binder seg så til 30 S ribosomet, og alle IF faktorene løsner. Dette gjør at A setet blir ledig og ny ladet tRNA med antikodon som passer med kodon på mRNA, kan komme med sin aminosyre med hjelp av EF-GTP komplekset (EF=elongeringsfaktor). Når tRNA med aminosyre 2 er plassert i A setet, flytter ribosomet seg (ved hjelp av EF-G-GTP). Dette fører til at aminosyre 2 havner i P setet, og f.Met skyves oppover i dette setet og danner peptidbinding med aminosyre 2. Opprinnelig tRNA til f.Met (som nå er løst fra hverandre) havner i E setet og løsner etterhvert. tRNA til aminosyre 2 havner i P setet, og A setet blir igjen ledig for ny ladet tRNA med antikodon som hybridiserer med kodon på mRNA. Slik fortsetter translasjonen helt frem til stop kodon (finnes 3 stk). Stopkodon har ikke noe tilhørende tRNA, men Releasefaktor. Releasefaktor 1 eller 2 (alt etter hvilket kodon) bindes, og har med seg et vannmolekyl som hydrolyserer esterbindingen mellom tRNA og dens aminosyre. Slik løsner polypeptidet. Releasefaktor 3 fjerner releasefaktor 1 eller 2. Ribosomer går så fra hverandre og 30 S og 50 S er klare til å brukes på nytt.

Besvart

Knytte håndtegninger til denne oppgaven?

Bruk følgende kode:

3 1 6 5 6 4 5

Håndtegning 1 av 1

3 1 6 5 6 4 5

20.12.17

ML-208

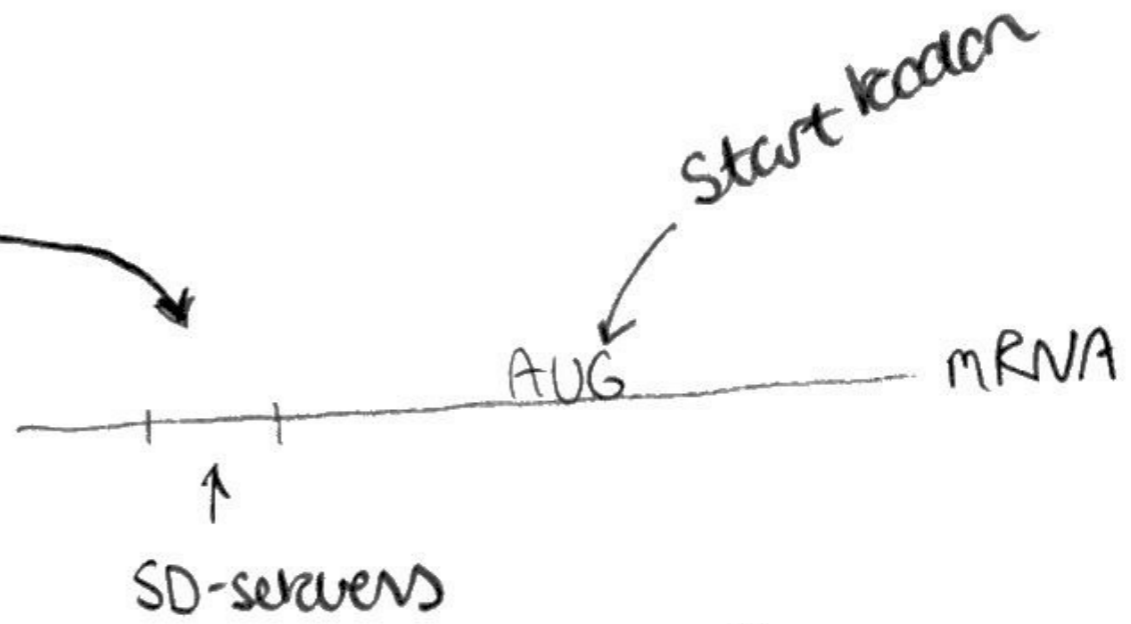
7301

Oppgave 1

1

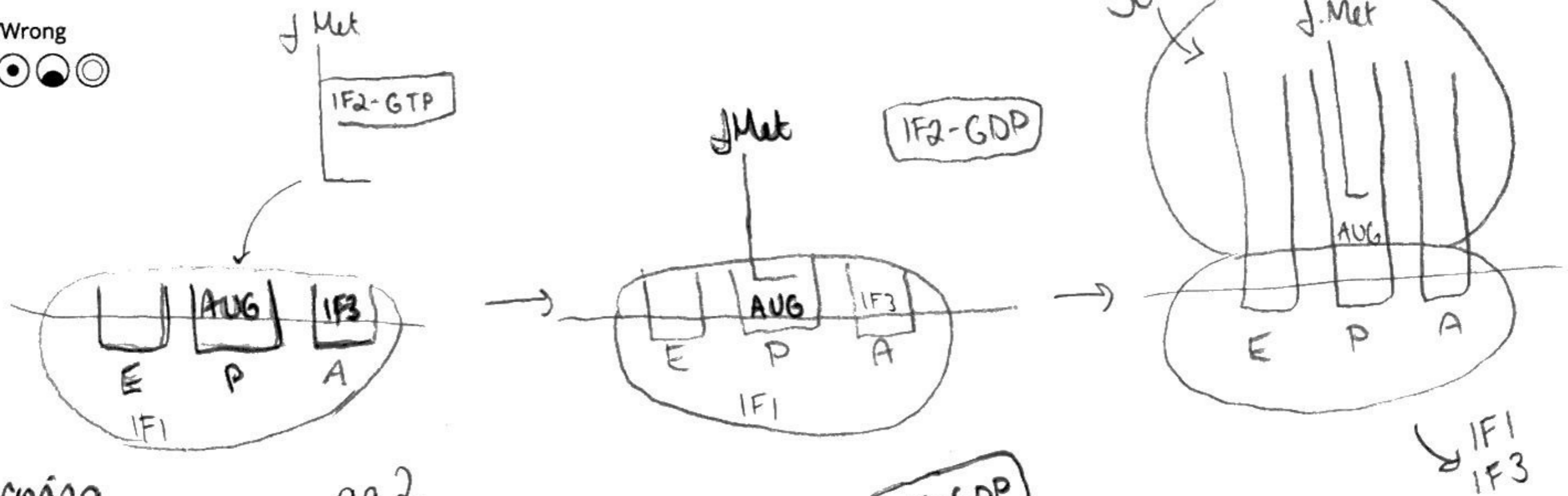
Drawing area Tegneområde

Initiering

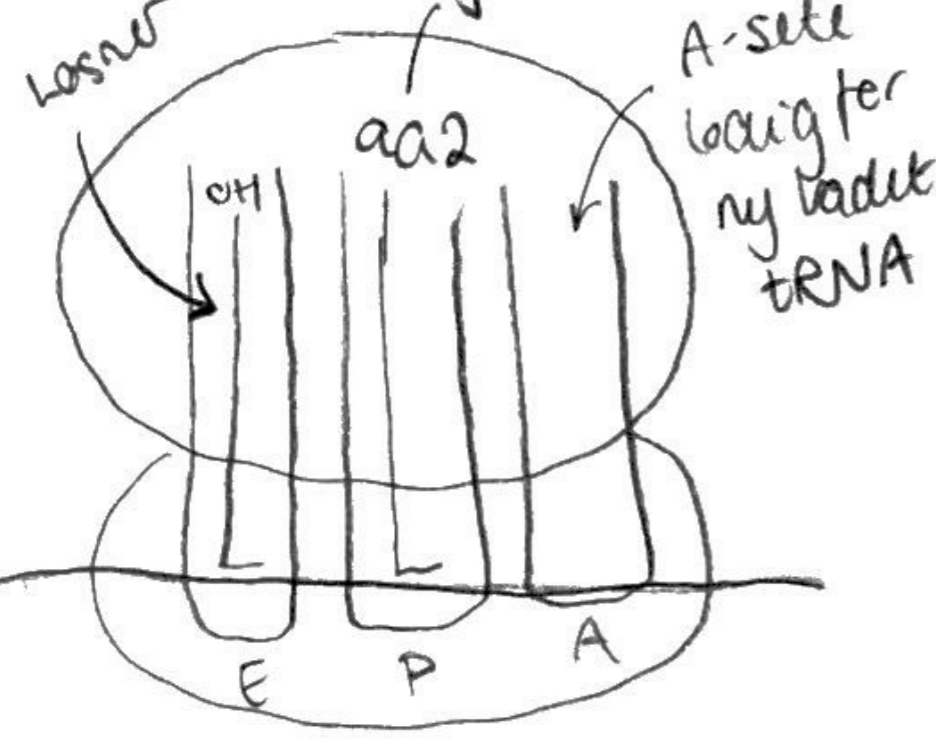
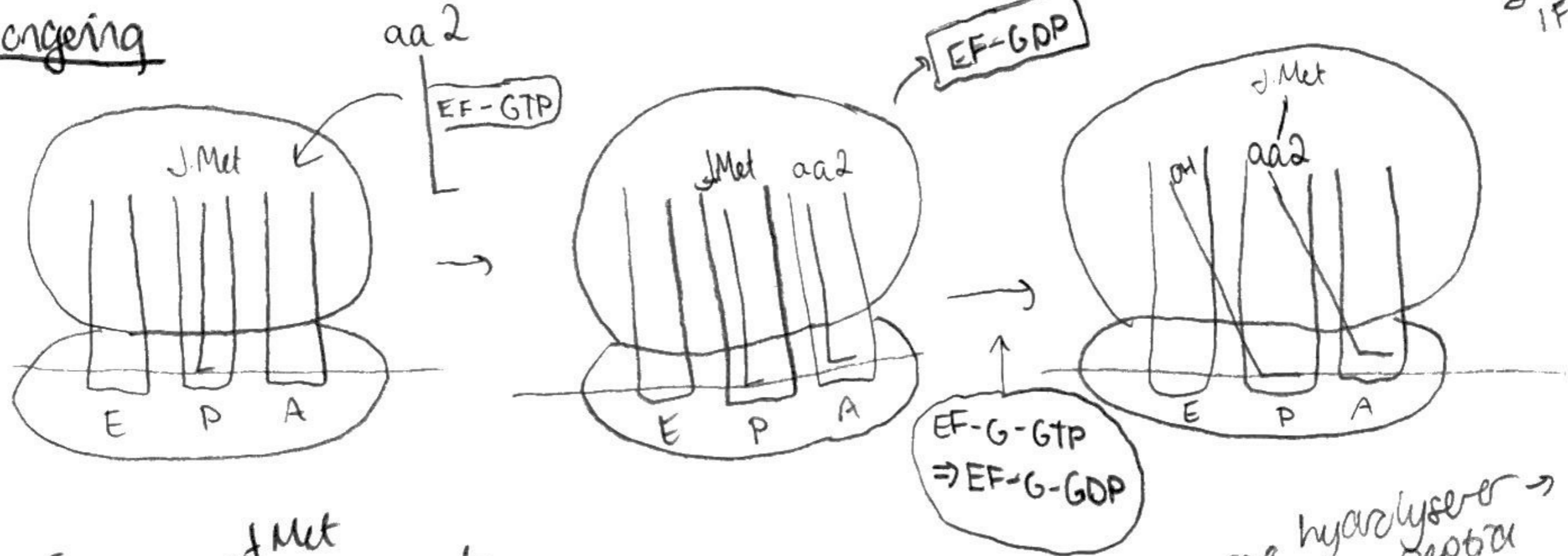


Riktig/Correct

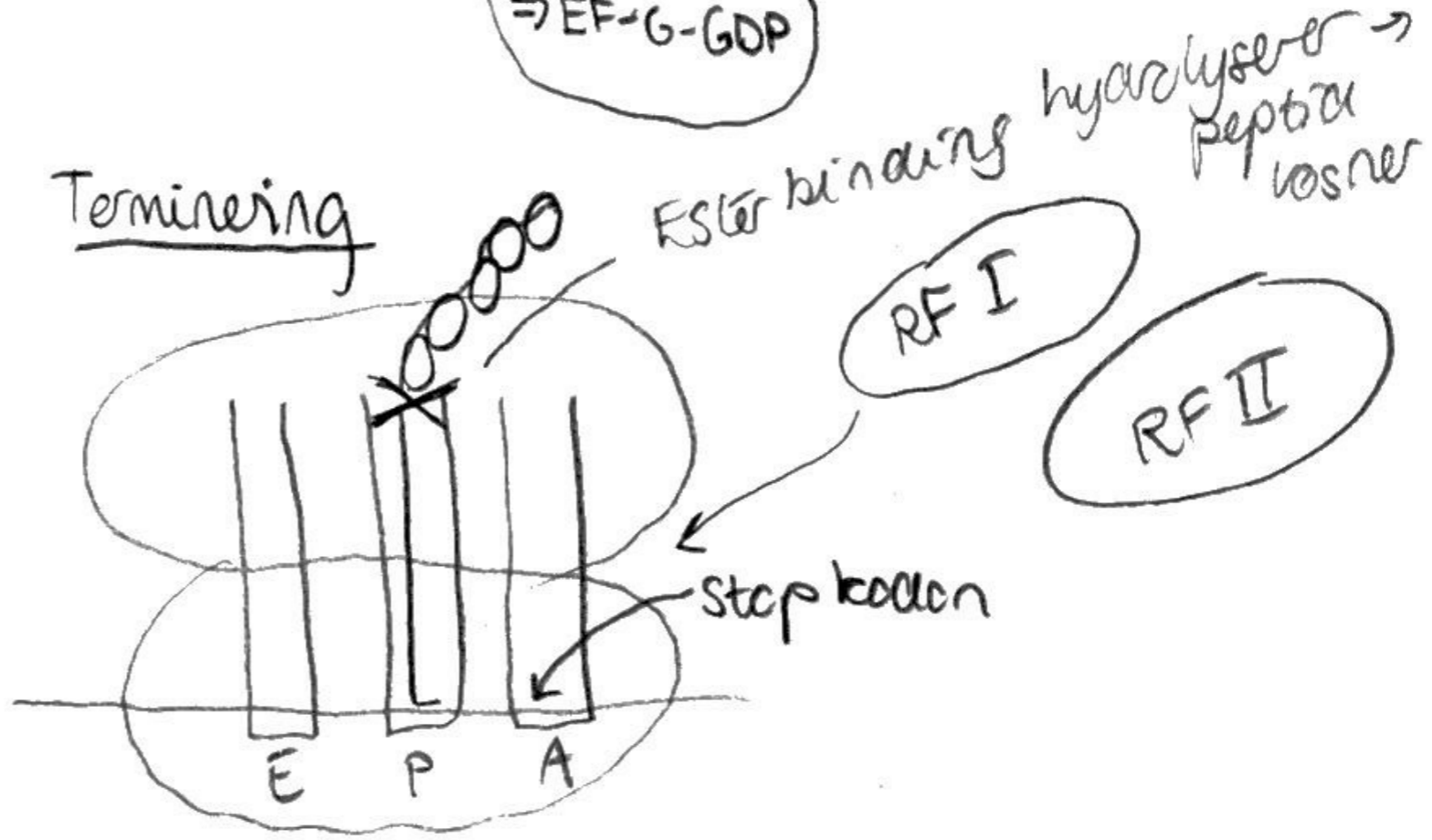
Feil/Wrong



Elongering



Terminering



2 Ny oppgave

Oppgave 2.

Hva er et tumor-suppressorgen ?

Beskriv virkemåten til et tumor-suppressorgen (f.eks. p53-genet eller retinoblastoma-genet (Rb))

Er nedarvingsmønsteret til sykdom forårsaket av en mutasjon i et tumor-suppressorgen dominant eller recessivt ? Forklar svaret.

Skriv ditt svar her...

Et tumor-suppressorgen er et gen som koder for veksthemmende genprodukt. Produktet hindrer cellen i å dele seg. Et eksempel er Rb-genet som koder for Rb-protein. Dette proteinet binder seg til en transkripsjonsfaktor, og inaktiverer det. En aktiv transkripsjonsfaktor hjelper til med transkripsjonen av gener hos eukaryoter. I dette tilfellet hjelper dette genet til med å fremme celledeling, og en en mutasjon i Rb-genet kan føre til at Rb-proteinene ikke binder seg til transkripsjonsfaktoren, og den blir derfor aktiv hele tiden. Dette fører igjen med seg at genet som fremmer celledeling transkriperes hele tiden, og gir ukontrollert celledeling.

Tumor-suppressorgen har en recessiv virkemåte. Det betyr at for at en mutasjon skal gi opphav til ukontrollert celledeling, må mutasjonen ha skjedd i begge genutgavene (man har 2 utgaver/alleler; en fra mor og en fra far). Hvis en av utgavene er normal, vil denne kunne produsere nok genprodukter til at genet fortsatt gjør sin oppgave. I Rb- genet vil f. eks en mutert genutgave føre til at Rb-proteiner ikke binder seg til TF lengre. Den andre, normale genutgaven vil derimot produsere nok proteiner til at TF forblir inaktiv. Skulle derimot begge genutgavene få en mutasjon, vil dette kunne føre til ukontrollert celledeling, da ingen av genene gir fungerende genprodukt. Det er dette som menes med en recessiv virkemåte til tumor suppressorgen, og det er et recessivt nedarvingsmønster. Det vil si at man kan arve den ene muterte utgaven av genet fra en foreldre. Har man derimot arvet en normal utgave fra den andre foreldren, er man frisk. Problemet er da hvis denne normale utgaven også muterer, eller arver to muterte utgaver. Da har man ingen utgaver igjen som gir normal genprodukt og dette kan føre til ukontrollert celledeling.

Det er ikke mange tilfeller av arvelig kreft, men et eksempel er en type brystkreft. Her kan det være at en genutgave er mutert og nedarves, og skulle en mutasjon skje i den normale genutgaven kan dette føre til brystkreft. Mutert nedarvet gen, øker altså sjansen for å utvikle brystkreft.

Annen type kreftgener er oncogener. Disse er muterte gener (normale gener kalles protooncogener), og koder for vekstfremmende produkter. F.eks et gen for reseptorprotein som stimuleres av vekstfremmende hormon og viderfører signal om celledeling til cella. Skjer en mutasjon i dette genet, kan det bli feil på reseptoren som gjør at den sender signaler om celledeling til tross for at vekststimulerende hormon ikke er tilstedet. Oncogener har dominant virkemåte, og mutasjon i en genutgave er nok til å gi ukontrollert celledeling.

Besvart

Knytte håndtegninger til denne oppgaven?

4 5 2 9 2 4 2

Bruk følgende kode:

3 Ny oppgave

Oppgave 3.

a)

Gen X uttrykkes vanligvis ikke i hvite blodceller. Du vil undersøke om dette genet uttrykkes i disse cellene etter at en person har tatt et bestemt medikament.

Hvordan kan man benytte PCR for å undersøke dette?

b)

Nedenfor vises en DNA-sekvens. Du skal ved hjelp av PCR amplifisere området som er understreket (eller mer). Det vises 6 PCR-primer-par. Hvilket – eller hvilke – primerpar vil fungere i en slik PCR? (Primerne i denne oppgaven er for korte til å fungere i virkeligheten, men se bort fra dette).

5'AGCTGATGGCTAATCGGGTAGCTGAATACGTAGCTTAGGGT 3'

Primerpar 1 5'GCTGATGGCTAA 3' og 5'ATACGTAGCTTA 3'

Primerpar 2 5'GCTGATGGCTAA 3' og 5'TAAGCTACGTAT 3'

Primerpar 3 5'CTACCGATTAGC 3' og 5'ATTCGATGCTAT 3'

Primerpar 4 5'AGCTGATGGCTA 3' og 5'ACCCTAAGCTAC 3'

Primerpar 5 5'ATGGCTAATCGG 3' og 5'TTCGATGCATAA 3'

Primerpar 6 5'ACGTAGCTTAGG 3' og 5'CGATTAGCCATC 3'

Skriv ditt svar her...

a) Hvis genet blir uttrykket i cellen, vil man kunne finne mRNA som er komplementær med dette genet. Starter derfor med å isolere mRNA som finnes i den hvite blodcellen som har tatt medikamentet. Via revers transkriptase lages cDNA med mRNA som templat. RNA/DNA komplekset løses opp, og man lager dobbeltrådet cDNA. Man har nå et cDNA bibliotek over alle aktive gener i cellen. Herfra kan man kjøre PCR på cDNA for å sjekke om det gitte genet er aktivt. Må da bruke to primere med sekvens man vet vil hybridisere med den gitte cDNA sekvensen hvis den er tilstedet. En primer på hver sin tråd og på hver side av området man vil amplifisere. I tillegg må man ha DNA polymerase og dNTP (deoksynukleotidtrifosfat). Når temperaturen økes denaturerer cDNA trådene. Temperaturen senkes litt igjen slik at primerene fester seg (hvis cDNA for genet er tilstedet). Deretter økes temperaturen litt igjen slik at DNA polymerasen kan syntetisere ut fra primerene. Hvis man får PCR produkt, betyr dette at primerene har funnet riktig sekvens å hybridisere med. Det betyr at det har vært mRNA i den hvite blodcellen som har tatt medikamentet, og genet er derfor blir uttrykket i denne cellen. Hadde man ikke fått PCR produkt, ville det bety at primerene ikke har funnet noen komplementær sekvens, og ikke festet seg. Det betyr igjen at det ikke har vært noe mRNA og cDNA for dette genet i denne cellen. For å være sikker på at primerene hybridiserer til riktig sekvens, kan det være lurt å bruke lange primere for å unngå at de fester seg på andre sekvenser. Man kan også bruke høyere temperatur på PCR (bryter svake H-bindinger), slik at ufullstendig hybridisering eller dannelse av primer-dimer unngås.

b) Primerpar 2 og 4 vil fungere i en slik PCR.

Besvart

Knytte håndtegninger til denne oppgaven?

Bruk følgende kode:

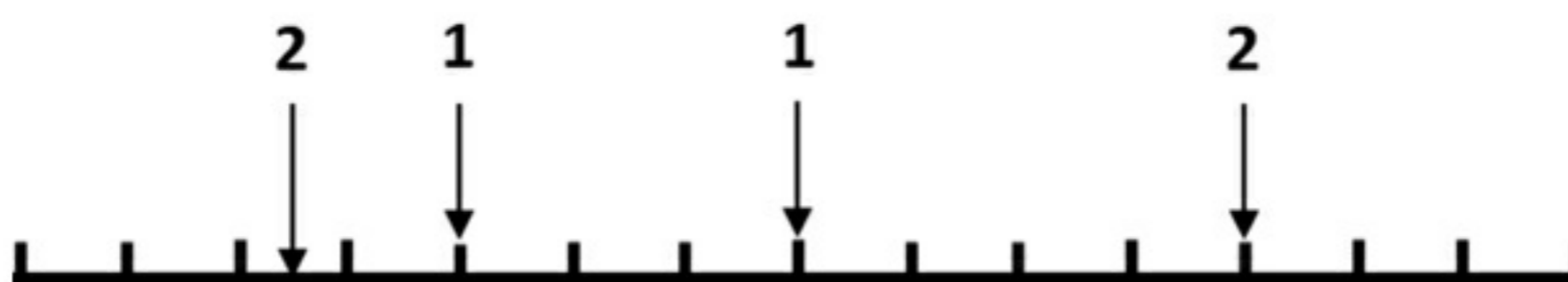
3 8 7 7 8 0 9

4 Ny oppgave

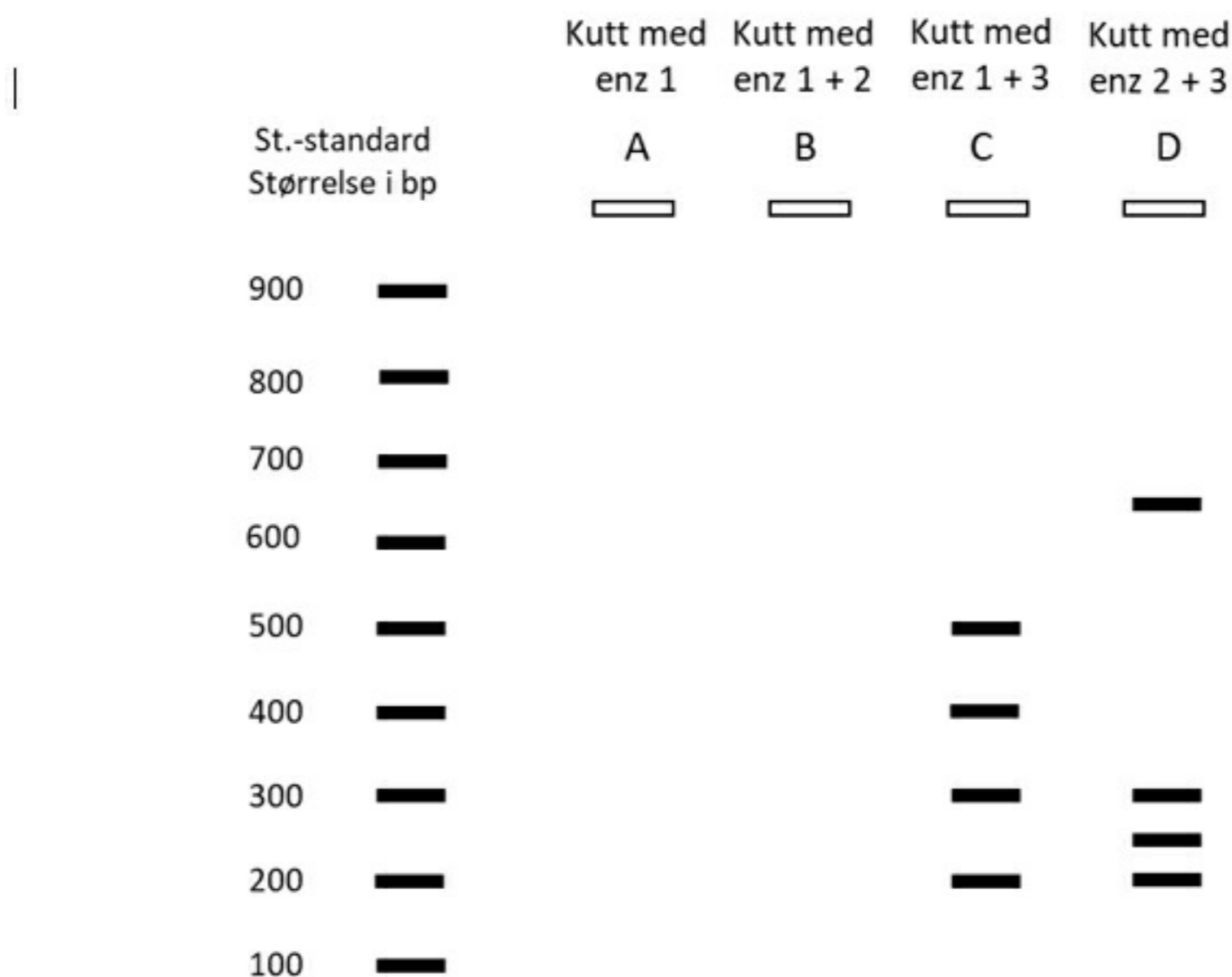
Oppgave 4

Nedenfor vises et DNA-molekyl som er 1400 bp langt. De små strekene markerer hvert 100. nukleotid. Restriksjonssetene for restriksjonsenzymene 1 og 2 er vist med piler. Etter ulike kuttinger er fragmentene separert vha gelelektroforese, og en figur av en gel der fragmentene fra noen av kuttingene er tegnet inn, vises nedenfor. Til venstre i gelen vises en størrelsesstandard med fragmentstørrelser som vist på figuren.

DNA-molekyl med restriksjonssete for restriksjonsenzym 1 og 2:



Figur av gel etter elektroforese:



a)

Lag en tegning av gel-figuren på eget ark (få med størrelsesstandarden) og tegn i spor A plasseringen til fragmentene etter kutting av DNAmolekylet kun med restriksjonsenzym 1. (Arket scannes/leveres, info av eksamensvaktene gis).

b)

I samme tegning som du laget i oppgave a : tegn i spor B i figuren, plasseringen til fragmentene etter kutting av DNAmolekylet med både restriksjonsenzym 1 og restriksjonsenzym 2.

c)

Restriksjonsenzym 3 har ukjent plassering av kuttesete i dette DNA-molekylet. Etter kutting med både enzym 1 og 3 får man fragmentene som vises i spor C, og etter kutting med både enzym 2 og 3 får man fragmentene som vises i spor D. Hvor i DNA-molekylet ligger restriksjonssetet til enzym 3?

Gjengi DNA-molekylet (med kutteseteplassering for enz 1 og enz 2 tegnet på) på arket du allerede har tegnet gel-figuren, og vis med pil hvor restriksjonsenzym 3 kutter.

Skriv ditt svar her...

a) Får tre fragmenter: 1 på 300 bp, et på 400 bp og et på 700 bp.

b) Får fragmenter på: 150 bs, 250 bs, 300 bs og 400 bs.

c) For å få fragmentene i spor C kan restriksjonsenzym 3 enten kutte på 1200 bs eller 900 bs. Fra spor D er det derimot kun hvis restriksjonsenzym 3 kutter på 900 bs, at man kan få disse fragmentene her. Kan derfor konkludere med at restriksjonsenzym 3 har restriksjonssete på 900 bs!

Knytte håndtegninger til denne oppgaven?
Bruk følgende kode:

2 4 2 8 4 1 3

Håndtegnning 1 av 1

Oppgavekode
Question Code

Dato
Date

Emnekode
Subject code

KandidatID
Candidate ID

Oppgavenr
Question nr

Sidetal
Page number

2428413

20.12.17

ML-208

7301

Oppgave 4

2

Drawing area Tegneområde

Riktig/Correct



Feil/Wrong



St. standard
Størrelse i bp

Kutt med
enz 1
A

Kutt med
enz 1+2
B

Kutt med
enz 1+3
C

Kutt med
enz 2+3
D

900
800
700
600
500
400
300
200
100

