

**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:

**2 6 8 7 5 6 0****1 ML-208, oppgave**

Oppgave 1

Beskriv translasjon av mRNA til protein hos prokaryoter.

**Skriv ditt svar her...**

Hos prokaryoter skjer translasjonen av mRNA til protein fortløpende etter at mRNA er dannet i transkripsjonen, og det er strukturer som kalles ribosom som står for denne translasjonen. Ribosomet er delt i to deler med størrelse 30s og 50s, som underveis samles til en struktur. Ribosomet har tre seter, E, P og A, med ulike oppgaver.

Initiering (se vedlagt illustrasjon): Før selve translasjonen starter, må mRNAet festes riktig på 30s delen av ribosomet, slik at kodon 1 og kodon 2 blir plassert i henholdsvis P setet og A setet. For å hjelpe til med dette har mRNAet en sekvens kalt Shine-Delgano ca 10 baser ovenfor startkodonet AUG. Denne sekvensen blir gjenkjent av en del på ribosomet kalt 16s, som binder her og på den måten får mRNA rett plassert. I startfasen er det tre initieringsfaktorer som er sentrale; IF1, IF2 og IF3. IF1 sperrer A-setet på 30s ribosomet slik ingen tRNA fester seg her for tidlig. IF3 hindrer 50s i å binde seg for tidlig til 30s. IF2 får det første tRNAet på plass. Det første tRNAet er spesielt for initieringa og har med seg aminosyren Methonin, som startkodonet AUG koder for. Den første Met er formylert, og blir ofte skrevet som fMet, og tRNA som bærer med seg denne blir skrevet som tRNA<sup>fMet</sup>, eller som fMet-tRNA<sup>fmet</sup> om det er ladet med aminosyren. Det fins to tRNA som koder for Met, en av de er kun til initieringa og den andre tar med seg aminosyren til senere i elongeringen. Det første tRNAet har en spesiell struktur som gjør at IF2 gjenkjenner det og plasserer det i P-setet på 30s ribosomet ved hjelp av GTP. Det er kun denne tRNAen som kan feste seg direkte i P-setet, de neste må feste seg i A-setet. På slutten av initieringa fester 50s delen seg til 30s ribosomet og elongeringen kan starte.

Elongering (se vedlagt illustrasjon): tRNA har antikodon som passer til kodon på mRNA og det er disse antikodonene som bestemmer hvilken aminosyre hvert tRNA frakter med seg. De blir ladet med riktig aminosyre ved hjelp av et enzym, aminoacyl tRNA syntase, som gjenkjenner antikodonet og kobler det opp til riktig aminosyre. Den frakter aminosyren og fester det på rett tRNA ved hjelp av ATP. Det fins et slikt enzym for hver av de 20 aminosyrene. Det fins flere kodon enn det fins tRNA, men dette er løst med wobble-mekanismen. Det vil si at den tredje basen i kodonet hos mRNA, altså i 3`enden, ikke trenger å passe til basen i 5`av antikodonet hos tRNA. De får likevel samme aminosyre fordi en aminosyre som regel har flere kodon som koder for de, degenerert kode.

Når elongeringen i translasjonen skjer, blir det satt inn nye tRNA lada med aminosyre i A-setet på ribosomet. Det er en elongeringsfaktor, EF-Tu, som ved hjelp av GTP, finner rett tRNA og frakter den inn i A-setet. EF-Tu går så av ribosomet. Deretter blir ribosomet forskøvet i to steg, dette er det elongeringsfaktor EF-G som gjør, også den ved bruk av GTP. De to tRNA, et i P-setet og et i A-setet, får først den øverste delen over i nabosetet. Her vil den aminosyren som var koblet til tRNA i P-setet komme over og skape binding med aminosyren til den tRNA som satt i A-setet. Den stadig voksende peptidkjeden vil dermed alltid stå i P-setet. Etterpå blir resten av tRNA også forskøvet slik hele tRNA-molekylet nå er forskøvet til nabosetet. tRNA som kom fra P-setet er nå i E-setet, og ulada, altså ingen aminosyre er bundet til den. Den vil så gå av ribosomet og prosessen kan starte på nytt, med neste tRNA som skal festes i A-setet, til neste kodon.

Terminering: mRNA har tre stoppkodon, og det fins to release faktorer, IF1 og IF2 som gjenkjenner disse. Når det kommer et stoppkodon i A-setet vil en av disse komme inn med et vannmolekyl og hydrolysere esterbindingen mellom den siste tRNA og polypeptidkjeden, og proteinet vil da løsne fra ribosomet. IF3 er en tredje release faktor som kommer inn og løsner IF1 eller IF2 fra ribosomet og translasjonen er nå ferdig.

Besvart

**Knytte håndtegninger til denne oppgaven?**

Bruk følgende kode:

**7 8 3 4 7 5 5**

7834755

20.12.17 ML-208

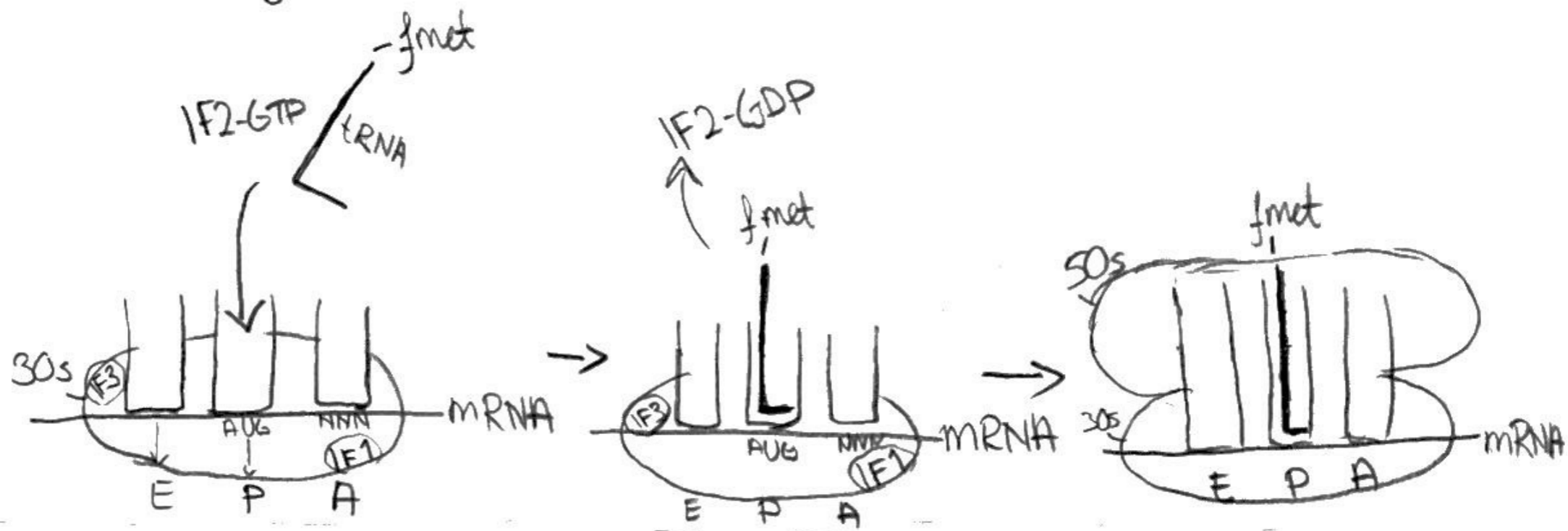
7337

1

1

Drawing area Tegneområde

### Initierring:



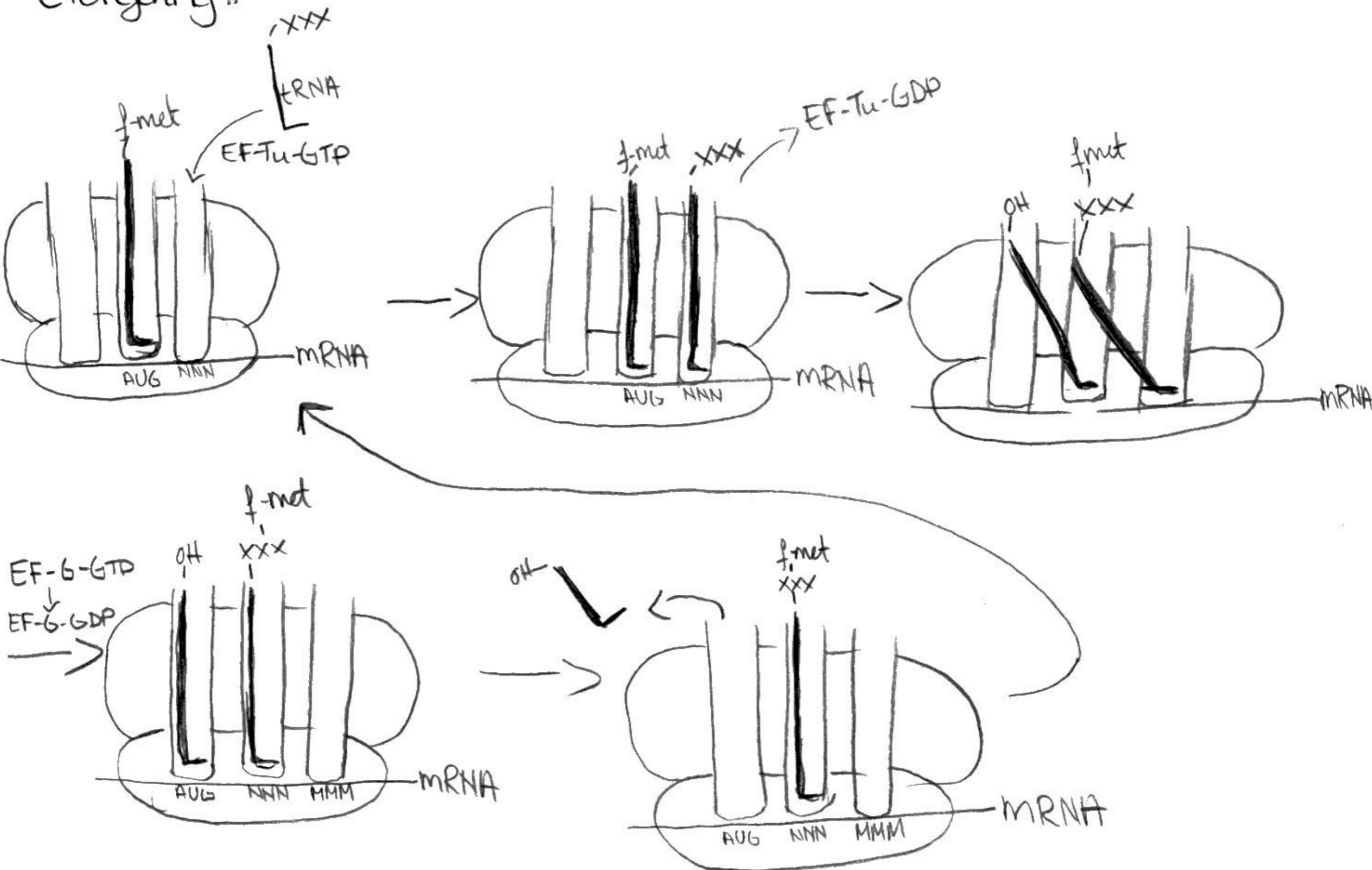
Riktig/Correct



Feil/Wrong



### Elongering:



## 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 tumorsuppressorgen er et gen med veksthemmende genprodukt, altså et produkt som kontrollerer/hemmer cellevekst, og slik altså tumordannelse. Slike type produkter er spesielt viktige i cellyklusen, foreksempel i G1 fasen. Dette er fasen der det blir bestemt om en celle skal gå videre og dele seg eller om den skal gå inn i en hvilefase. Det blir også kontrollert hvor vidt cella/DNAet er skadet og trenger reparasjon. I denne fasen er det et molekyl, kalt p53 tilstede. Dette er genproduktet til p53-genet som er et tumorsuppressorgen. Ved normale tilstander er konsentrasjonen av dette molekylet liten, og cella kan gå videre til neste fase. Om det blir oppdaget feil i DNAet, øker konsentrasjonen av p53, og dette hindrer cella i å gå videre før skaden er reparert. Om skaden ikke kan repareres, blir det gitt signal om apoptose, kontrollert celledød. Dersom det skulle skje en mutasjon i dette genet som gjør at det for eksempel slutter å fungere, fører det til at det ikke blir produsert p53 og den stoppmekanismen denne står for blir borte. Dette kan føre til ukontrollert cellevekst og kreft ved at cella fortsetter å dele seg selv om den er skadet.

Virkemåten er recessiv, det vil si at begge allelene for dette genet må være muterte for at ukontrollert cellevekst oppstår. Det betyr at om kun en av kopiene er mutert og for eksempel ikke virker lenger så vil den andre kopien klare å opprettholde normal funksjon alene.

Besvart

**Knytte håndtegninger til denne oppgaven?**

Bruk følgende kode:

**6 6 5 7 9 1 9**

## 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) PCR er en metode å amplifisere DNA på ved å bruke DNA-polymerase (varmebestandig), dNTP (de fire basene), 2 primere og templat. Ved å bruke passende primere, en på hver side av sekvensen vi er interessert i å kopiere opp, vil den biten blir amplifisert eksponentielt. For å gjennomføre PCR, må en kjøre mange sykluser der en varierer temperaturen. Først rundt 95 grader, noe som fører til at DNAet denaturere, så skru ned temperaturen til rundt 55 grader. Dette gjør at primerene fester seg på DNA-trådene. Deretter skrur man opp temperaturen litt igjen, til rundt 70 grader. Ved denne temperaturen skjer DNA-syntese og nytt DNA blir syntetisert. Videre skrur man opp temperaturen igjen og kjører gjennom syklusen på nytt. Dette gjør man så mange ganger man ønsker, jo flere sykluser, jo mer produkt.

En vil undersøke om gen x blir uttrykt i hvite blodceller etter å ha tatt et medikament. En av metodene en kan bruke til dette er PCR. Først må en isolere mRNA fra de hvite blodcellene. mRNA blir kun transkribert av gen som er aktive og som skal uttrykkes i cella. mRNA er ustabil, og det kan være lurt å lage cDNA fra mRNAet. Det gjøres ved revers transkriptase, altså en lager DNA med RNA som templat. Etter dette er gjort, står en igjen med cDNA fra cella, som representerer alle aktive gen. Vil vil undersøke om gen x er aktivt ved hjelp av PCR. En må vite sekvensen til genet på forhånd slik en kan lage to spesifikke primere som passer til dette genet. Det vil si at de kun fester seg til DNAet om dette genet er tilstede. En tilsetter varmebestandig DNA-polymerase, dNTP og disse 2 primerene til DNA prøven. Så kjøres den gjennom PCR-sykluser. Dersom vi får PCR-produkt, vil det si at gen x er uttrykt. Primerene har hatt noe og feste seg på, og siden vi brukte primere som var spesifikke kun for dette genet så betyr det at genet er aktivt. Er det ikke noe PCR-produkt har ikke primerene hatt noe å feste seg på og genet var ikke tilstedet (har ikke hatt templat til DNA-syntesen gjennom PCR).

b) Det er primerpar 2 og 4 som passer til denne PCRen.

Par 1:

**5'AGCTGATGGCTAATCGGGTAGCTGAATACGTAGCTTAGGGT 3'**  
 \_\_\_\_\_ 3' nei 5'

**3'TCGACTACCGATTAGCCCATCGACTTATGCATCGAATCCCA 5'**  
 \_5'GCTGATGGCTAA 3'

Par 1 passer ikke, kun den ene.

Par 2:

**5'AGCTGATGGCTAATCGGGTAGCTGAATACGTAGCTTAGGGT 3'**  
 \_\_\_\_\_ 3'TATGCATCGAAT 5'

**3'TCGACTACCGATTAGCCCATCGACTTATGCATCGAATCCCA 5'**  
 \_5'GCTGATGGCTAA 3'

Par 2 passer.

Par 3:

**5'AGCTGATGGCTAATCGGGTAGCTGAATACGTAGCTTAGGGT 3'**  
**3'TCGACTACCGATTAGCCCATCGACTTATGCATCGAATCCCA 5'**

Par 3 passer ikke.

Par 4:

**5'AGCTGATGGCTAATCGGGTAGCTGAATACGTAGCTTAGGGT 3'**  
 \_\_\_\_\_ 3'CATCGAATCCCA 5'

**3'TCGACTACCGATTAGCCCATCGACTTATGCATCGAATCCCA 5'**  
 5'AGCTGATGGCTA 3'

Par 4 passer!

Par 5:

**5'AGCTGATGGCTAATCGGGTAGCTGAATACGTAGCTTAGGGT 3'**

\_\_\_\_\_ 3` nei 5`

**3'TCGACTACCGATTAGCCCATCGACTTATGCATCGAATCCCA 5'**

5'ATGGCTAATCGG 3'

Nei, kun den ene primeren passer, vi trenger to.

Par 6:

**5'AGCTGATGGCTAATCGGGTAGCTGAATACGTAGCTTAGGGT 3'**

3`CTACCGATTAGC 5`

**3'TCGACTACCGATTAGCCCATCGACTTATGCATCGAATCCCA 5'**

5'ACGTAGCTTAGG 3'

Primerene passer til templatet, men de passer på feil side av den sekvensen som vi er interessert i. DNA-syntesen går fra 3`enden av primerene, og i dette primerparet ligger 3`enden vekk fra den sekvensen vi vil amplifisere. Det vil si at vi får kopiert opp alt annet enn det vi er interessert i ,og vi får ikke noe PCR-produkt.

Besvart

**Knytte håndtegninger til denne oppgaven?**

**3 8 4 4 2 0 9**

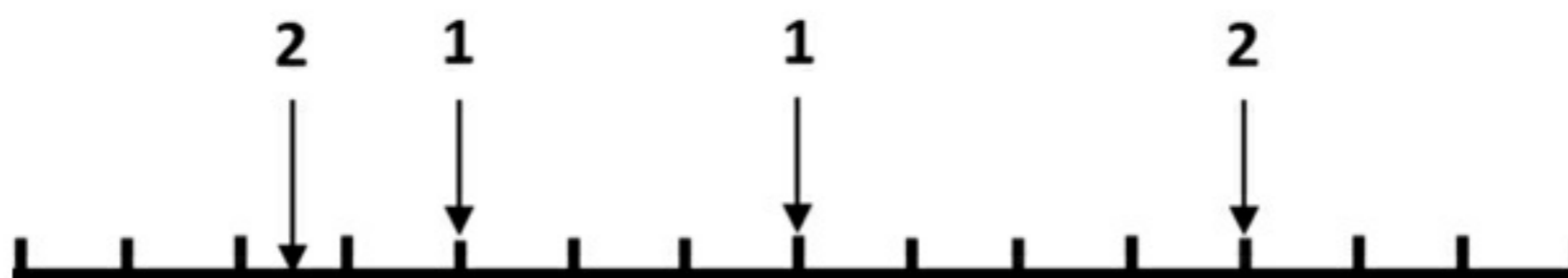
Bruk følgende kode:

## 4 Ny oppgave

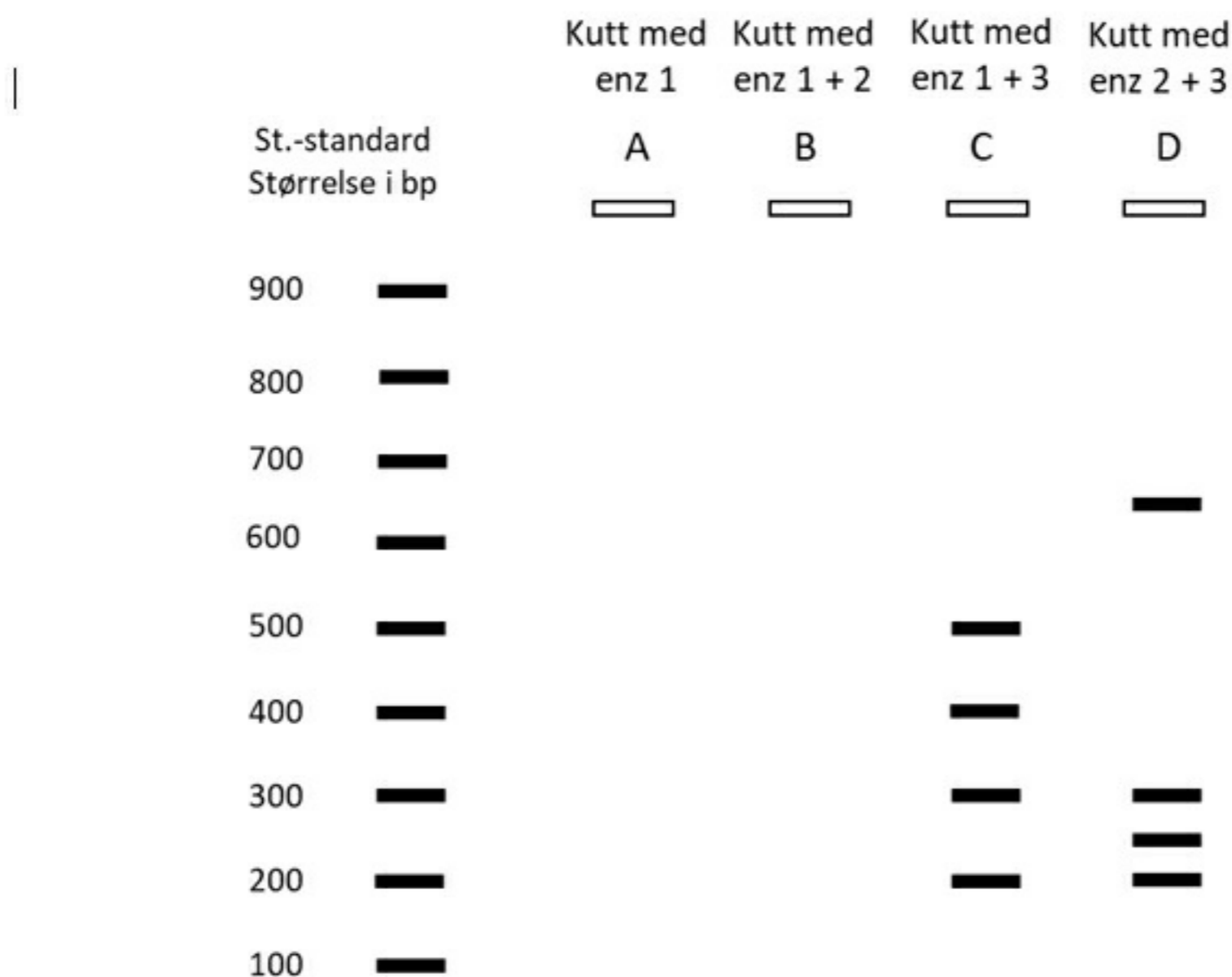
Oppgave 4

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 størrelsesstandard) 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 kuttsete 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 kuttseteplassering 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...**

Svar gitt i vedlagt ark.

a) Restriksjonsenzym 1 gir bånd i gelen med størrelse 300 bp, 400 bp og 700 bp.

b) Restriksjonsenzym 1 og 2 sammen gir bånd med størrelse 150 bp, 250 bp, 300bp og 400 bp.

c) Restriksjonssetet til enzym 3 ligg på 900 bp. Hadde den kutta aleine hadde vi fått et bånd på 900 bp og et bånd på 500 bp.

---

Besvart

**Knytte håndtegninger til denne oppgaven?**

Bruk følgende kode:

**6 3 1 0 5 8 6**

Håndtegning 1 av 1



6310586

20.12.17 ML-208

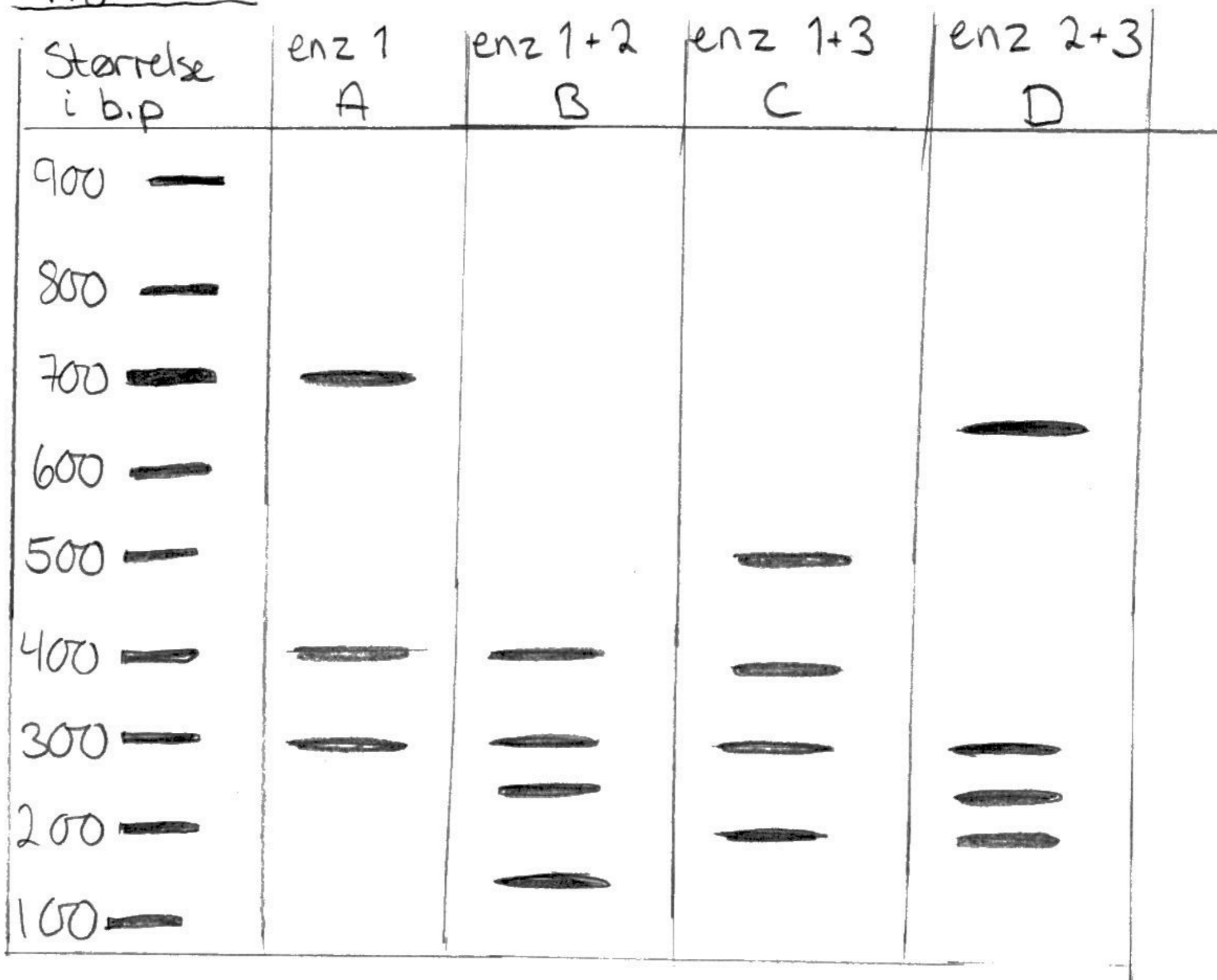
7337

4

2

OPPG 4 a+b

Drawing area Tegneområde



Riktig/Correct

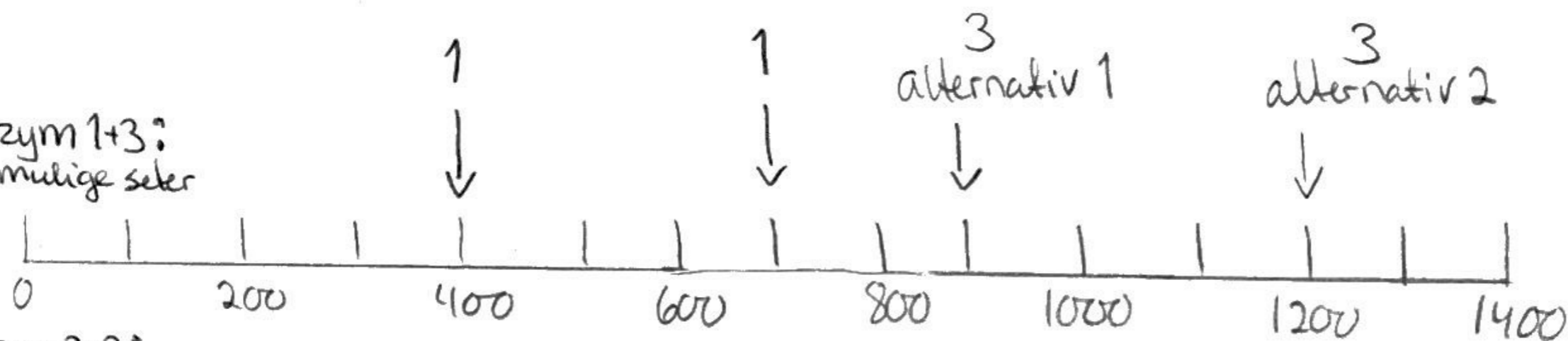


Feil/Wrong

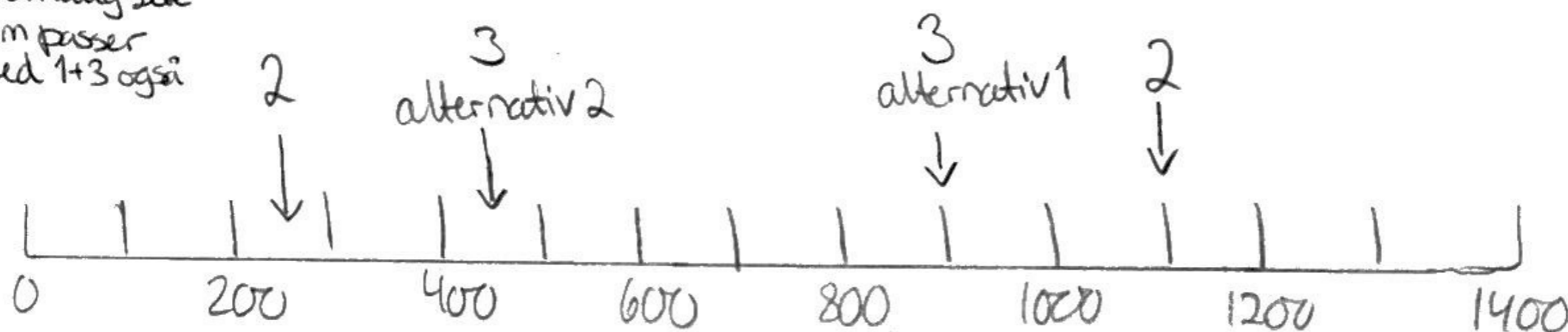


c)

enzym 1+3:  
To mulige steder



enzym 2+3:  
Eit mulig site som passer med 1+3 også



3 må kutte ved 900bp

