

KONTEEKSAMEN **sensorveiledning**

Emnekode: IRBIO30220	Emnenavn: Molekylær diagnostikk og bioinformatikk
Dato: 23.januar 2024 Sensurfrist: 13.februar 2024	Eksamenstid: 09.00-13.00 (+ 15 min) 4 timer
	Faglærer: <ul style="list-style-type: none">• Maria Dung Cao (emneansvarlig og kontaktperson) Oppgaven er kontrollert: Ja
Hjelpemidler: Tillatt hjelpemiddel: Kalkulator, med tomt minne, som ikke kan regne symbolsk eller kommunisere trådløst.	
Om eksamensoppgaven: Eksamensoppgaven består av tre hoveddeler, totalt 14 oppgaver. <ul style="list-style-type: none">• Molekylær diagnostikk, 9 oppgaver• Bioinformatikk, 2 oppgaver• Nukleærmedisin, 3 oppgaver Hver oppgave kan ha flere delspørsmål. Oppgavene og delspørsmålene kan ha ulik vektning (oppgis i oppgaven).	
Kandidaten må sørge for å besvare alle oppgaver og er selv ansvarlig for å kontrollere besvarelsen i Inspira sitt arkiv umiddelbart etter levering.	

1. MOLBIO_H23_konte_Molekylær patologi

Opggaven består av tre spørsmål. Totalt 10 poeng.

I. Forklar metodeprinsippet for kvantifisering av nukleinsyrer (DNA eller RNA) på NanoDrop. (3 poeng)

NanoDrop er en spektrofotometer som kan måle konsentrasjonen av DNA eller RNA i en prøve basert på prinsippet at nukleinsyrer absorberer UV-lys ved en bestemt bølgelengde.

II. Forklar metodeprinsippet for kvantifisering av nukleinsyrer (DNA eller RNA) på Qubit. (3 poeng)

Qubit er en fluometer som kan måler konsentrasjonen av DNA eller RNA i en prøve ved bruk av fluoriserende farger som binder spesifikt til DNA eller RNA.

III. Forklar hvordan NanoDrop kan brukes til å vurdere renheten av en DNA prøve? (4 poeng)

- *På Nanodrop kan renheten av DNA vurderes ved å se på verdiene til 260/230 ratio og 260/280 ratio.*
- *DNA absorberer lys ved 260 nm. Organiske forbindelser absorberer lys ved 230 nm. Proteiner absorberer lys ved 280 nm.*
- *Kontaminasjon av organiske forbindelser kan føre til økt absorbans ved 230 nm, og dermed en lav 260/230 ratio. En 260/230 ratio under 1,8 indikerer kontaminasjon av organiske forbindelser.*
- *Kontaminasjon av proteiner kan føre til økt absorbans ved 280 nm, og dermed en lav 260/280 ratio. En 260/280 ratio under 1,8 indikerer kontaminasjon av proteiner.*

2. MOLBIO_H23_konte_Biomarkør, mikroRNA og sirkulerende DNA/RNA

Opggaven består av to spørsmål. Totalt 8 poeng.

I. Hva er en biomarkør? Nevn fire viktige egenskaper til en ideell biomarkør. (4 poeng)

En biomarkør er en karakteristikk som objektivt kan måles og evalueres som en indikator for en normal biologisk prosess, patologiske prosesser eller farmakologisk respons til en terapeutisk intervensjon. (2 poeng)

Viktige egenskaper til en ideell biomarkør:

- *Høy sensitivitet*
- *Høy spesifisitet*
- *Ikke-invasiv*
- *Billig*
- *Enkelt å måle*
- *Gi raske resultater*
- *Kan detekteres tidlig i et sykdomsforløp*
- *Nivået endres ved behandling*
- *Gi informasjon om prognose*

0,5 poeng per riktig egenskap. Maks 2 poeng. Kandidaten kan komme med andre riktige eksempler.

II. Hva er en flytende biopsi? Gi to eksempler på analyser som kan utføres med flytende biopsi. (4 poeng)

- *Flytende biopsi er en biologisk væske, eksempel blodprøve eller vevvæskeprøve, som kan gi diagnostiske informasjon. Flytende biopsi er mindre invasiv enn en vevsbiopsi. (2 poeng)*
- *Eksempel på analyser som kan utføres på flytende biopsier er DNA analyser av tumorceller, cellefritt DNA eller sirkulerende tumor DNA, metylering, microRNA og exosomer.*

1 poeng per riktig eksempel. Maks 2 poeng. Kandidaten kan komme med andre riktige eksempler.

3. MOLBIO_H23_konte_OMICS

Velg riktig beskrivelse for begrepene under.

(1 poeng per riktig svar, minus 1 poeng per feil svar, maks 5 poeng, minimum 0 poeng)

	Farmakologisk genomikk	Strukturell genomikk	Epigenomikk	Komparativ genomikk	Funksjonell genomikk
Sammenligner genomer fra forskjellige arter eller populasjoner med hverandre	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>
Beskriver den 3-dimensjonal struktur av et protein basert på genomet	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Undersøkelse av personavhengige reaksjoner på legemidler	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Studerer epigenetiske forandringer i genomet basert på det genetiske materialet i en celle	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Undersøker funksjoner på DNA, RNA eller proteinnivå	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

4. MOLBIO_H23_konte_Genekspresjonsanalyser og DNA-metylering

Oppgaven består av tre spørsmål. Totalt 6 poeng.

I. Forklar kort hva som menes med et kandidatgen og gi et eksempel på et kandidatgen. (2 poeng)

Kandidatgen er et gen av interesse som antas å være relatert til en bestemt egenskap. (1 poeng)

Eksempel belønnes med 1 poeng. I undervisningen ble det gitt eksempler på gener knyttet til adipogen differensiering: LEP, PPARG2, FABP4 og LPL.

II. Forklart kort hva DNA-metylering er og forklar kort hvordan DNA-metylering i hovedsak påvirker genuttrykket. (3 poeng)

- *DNA-metylering er en prosess hvor en metylgruppe fester seg til DNA-et.*
- *Metylgrupper festes på CpG-enheter og katalyseres av DNA-metyltransferaser.*
- *DNA-metylering fører som oftest til «gene silencing».*

III. Forklar kort hva absolutt kvantifisering benyttes til ved bruk av real time PCR. (1 poeng)

Absolutt kvantifisering benyttes til å bestemme eksakt mengde templat i prøven.

5. MOLBIO_H23_konte_Kromatografi

Oppgaven består av to spørsmål. Totalt 5 poeng.

I. Beskriv prinsippet bak væske fordelingskromatografi. (3 poeng)

- *I væske fordelingskromatografi er både stasjonærfasen og mobilfasen væske. Stasjonærfasen er en «bundet væske», mens mobilfasen er en bevegelig væske.*
- *Prøvekomponenter vil fordele seg mellom de to væskefasene i henhold til relativ løselighet i de to fasene.*
- *Separasjon av ulike prøvekomponenter oppnås når relativ løselighet i de to fasene er ulike fordi dette gir ulike vandringshastigheter.*

II. Gi en kort forklaring på retensjonstid, t_R og separasjonsfaktor, α . (2 poeng)

- *Retensjonstid, t_R : Tiden det tar for en komponent å bevege seg gjennom systemet, dvs. fra injeksjon til deteksjon*
- *Separasjonsfaktor, α : Angir forskjell i vandringshastighet for to komponenter*

6. MOLBIO_H23_konte_Sekvensering

Oppgaven består av to spørsmål. Totalt 6 poeng.

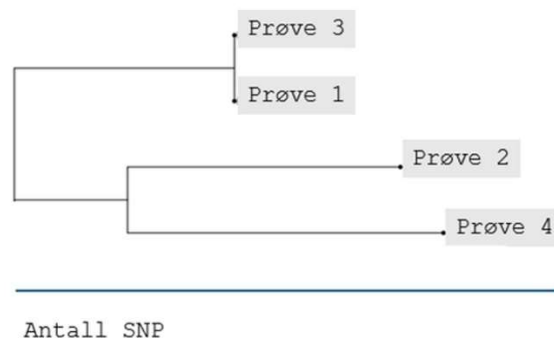
Smittevern fører oversikt over tilfeller med Staphylococcus aureus på intensivavdelingen for nyfødte og merker at det er en økning av tilfeller. De lurer derfor på om det er et utbrudd på avdelingen.

I. Hvilken sekvenseringsmetode vil du bruke for å hjelpe smittevernet i å finne svar på om det er utbrudd eller ikke? Beskriv kort formålet med metoden. (2 poeng)

Helgenomsekvensering (WGS) av bakterieisolatene. Formålet er å undersøke detaljert beskrivelse av bakteriegenomet (komplett DNA sekvens).

II. Etter at du har utført riktig sekvenseringsmetode, sammenligner du sekvensene fra de fire aktuelle bakterieisolatene (prøve 1-4) og gjør en slektskapsanalyse/fylogenetisk analyse som du visualiserer ved slektskapstreeet du ser nedenfor. X-aksen viser antall enkeltmutasjoner (SNPs).

Basert på det du ser i slektskapstreeet, har vi et utbrudd eller ikke? Begrunn svaret. (4 poeng)



- *For å ha et mulig utbrudd, må det være minimum to like tilfeller.*
- *Vi har et utbrudd som involverer prøve 1 og 3. Ser av slektskapstreeet at det er ingen forskjell i SNP'er mellom disse to prøvene. Vår analyse tyder på at bakterieisolatene er helt like genetisk.*
- *Må allikevel konferere med smittevern om det er sannsynlig at de to pasientene kan ha smittet hverandre. Har de vært på avdelingen på samme tid for eksempel.*
- *Prøve 2 og 4 er ikke med i utbruddet (er enkelttilfeller).*

7. MOLBIO_H23_konte_ Rettsmedisin og bioteknologiloven

Opgaven består av tre spørsmål. Totalt 10 poeng.

I. Hvilke fire molekylærbiologiske metoder benyttes vanligvis for å utføre DNA-analyse innen rettsmedisin? Beskriv kort hovedformålet med disse metodene? (4 poeng)

1. *DNA-ekstraksjon: Isolere DNA fra cellematerialet*
2. *Real-time PCR: Bestemme mengden humant DNA i en prøve*
3. *STR-amplifisering: Oppkopiere bestemte områder av DNA (STR-markører)*
4. *Kapillærelektroforese: Separering av STR-fragmentene etter størrelse og deteksjon ved bruk av fluorescensmerking for å bestemme lengde (antall repetisjoner) på fragmentene*

II. Hva er Preimplantasjonsdiagnostikk (PGD) og ved hvilke tilfeller er dette lov i Norge? (3 poeng)

- *Preimplantasjonsdiagnostikk (PGD) er gentesting av befruktet egg før innsetting i livmor. (1 poeng)*
- *PGD kan kun tilbys der en eller begge er bærere av alvorlig arvelig sykdom som kan overføres til barnet eller for å undersøke vevstype med sikte på å få et vevstypelikt barn som kan bli stamcelledonor for søsken med alvorlig, arvelig sykdom. (2 poeng)*

III. Hva er formålet med fosterdiagnostikk? Gi to eksempler på metoder innen fosterdiagnostikk. (3 poeng)

Fosterdiagnostikk er undersøkelse av føtale celler, foster eller en gravid kvinne med det formål å få informasjon om fosterets genetiske egenskaper eller for å påvise eller utelukke sykdom eller utviklingsavvik hos fosteret. (2 poeng)

Eksempler:

- *Ultralyd*
- *Fostervannsprøve*
- *Morkakeprøve*
- *NIPT (non invasiv prenatal test)*

0,5 poeng per riktig eksempel. Maks 1 poeng. Kandidaten kan komme med andre riktige eksempler.

8. MOLBIO_H23_konte_ Medisinsk genetik

Opgaven består av to spørsmål. Totalt 10 poeng.

Måleområdet for Qubit™ 1X dsDNA BR Assay er på 0.01 til 5,0 ng/μL.

I. Du analyserte en prøve hvor konsentrasjonen av DNA i Qubit tuben er høyere enn måleområdet. Beskriv hva du bør gjøre for å få riktig svar på prøven. (4 poeng)

- *For å kunne analysere prøven må konsentrasjonen av DNA være innenfor måleområdet.*
- *Du kan forsøke å fortynne prøven med nukleasefritt vann og måle på nytt på Qubit.*
- *Hvis DNA konsentrasjonen er fortsatt er for høyt kan du bruke en høyere fortynning.*
- *Hvis DNA konsentrasjonen er innenfor måleområdet og du har fått svar på den fortynnende prøven må du huske å beregne konsentrasjonen til DNA i originalprøven ved å ta hensyn til fortynningsfaktoren.*

II. Nevn og forklar tre feilkilder som kan påvirke DNA ekstraksjonen ved bruk av QIAamp® DNA Blood Mini kit. Beskriv kort hvilke tiltak som bør gjøres. (6 poeng)

- *For lite prøvemateriale (celler med DNA) kan gi lav DNA utbytte. Tiltak: øke mengde prøvemateriale.*
- *Ufullstendig lysering av celler fører til at DNA ikke er fritt/tilgjengelig til å binde seg til membranen i kolonnen. Tiltak: avhengig av hvilken trinn dette blir oppdaget. Bør starte på nytt med å lysere en ny prøve.*
- *For lav konsentrasjon av etanol i vaskebuffer kan påvirke bindingen av DNA til membranen i kolonnen. Tiltak: sjekke at det er tilsatt riktig mengde etanol.*

1 poeng per riktig eksempel og 1 poeng per riktig tiltak. Kandidaten kan komme med andre riktige eksempler.

9. MOLBIO_H23_konte_Medisinsk genetikk

Oppgaven består av fem multiple choice spørsmål.

(1 poeng per riktig svar, minus 1 poeng per feil svar, maks 10 poeng, minimum 0 poeng)

I. Velg riktig ord.

På laben i medisinsk genetikk brukte vi SNP analyse til å undersøke laktase genotype. Denne analysen inneholder *allele spesifikke primere* som kan binde til villtype allelet eller det muterte allelet. I tillegg inneholder Master Mix *Taq polymerase og RNase H2 enzym*. Reporter Mix inneholder *fluoriserende prober* som kan avgi signal avhengig av hvilke allele som finnes i prøven.

II. Velg alle riktige utsagn

Velg ett eller flere alternativer

Allele-spesifikke primere inneholder bindingssete for universal primer.

Allele-spesifikke primere er designet til å binde til DNA i 3' til 5' retning.

Taq polymerase binder til blokkingsgruppen og fjerner den slik at DNA templatet kan polymeriseres

Universal primer inneholder bindingssete for allele spesifikk primer

III. Er hele utsagnet riktig?

Genotypen (CC) ved posisjon 13910 er ofte assosiert med primær laktasemangel, men pasienten kan ha andre genvarianter assosiert med laktasepersistens.

Velg et alternativ

Sant

Usant

IV. Er hele utsagnet riktig?

Genotypen 13910C>T indikerer en SNP hvor T (thymin) basen er blitt byttet ut med en C (cytosin) base i posisjon 13910.

Velg et alternativ

Sant

Usant

V. Velg alle riktige utsagn

Velg ett eller flere alternativer

Pasienter med laktoseintoleranse mangler evnen til å produsere laktase pga. en SNP i nærheten av laktasegenet

SNP er en genetisk endring i én enkelt base i DNA som finnes i >1% av populasjonen

Fordelen med å bruke RNA-base og blokkingsgruppe i allele spesifikk primer er for å redusere uspesifikk DNA polymerisering

Pasienter med laktasepersistens har evnen til å produsere laktase pga. en SNP i nærheten av laktasegenet

10. MOLBIO_H23_konte_ Bioinformatikk databasesøk

Du har søkt informasjon om genet **FMR1** i UCSC genome browser.

Tildel riktig overskrift til riktig informasjon. Overskriftene skal stå over teksten de tilhører.

(0,5 poeng per riktig svar, minus 0,5 poeng per feil svar, maks 6 poeng, minimum 0 poeng)

Human Gene FMR1 (ENST00000370475.9) from GENCODE V41

Description

Homo sapiens FMRP translational regulator 1 (FMR1), transcript variant ISO1, mRNA. (from RefSeq NM_002024)

ID

FMR1_HUMAN

Position

hg38 chrX:147,912,180-147,948,844

RefSeq Summary

The protein encoded by this gene binds RNA and is associated with polysomes. The encoded protein may be involved in mRNA trafficking from the nucleus to the cytoplasm. A trinucleotide repeat (CGG) in the 5' UTR is normally found at 6-53 copies, but an expansion to 55-230 repeats is the cause of fragile X syndrome. Expansion of the trinucleotide repeat may also cause one form of premature ovarian failure (POF1). Multiple alternatively spliced transcript variants that encode different protein isoforms and which are located in different cellular locations have been described for this gene. [provided by RefSeq, May 2010].

Gencode Transcript

ENST00000370475.9

Size

36,665 nt

Exon Count

17

Function

Translation repressor. Component of the CYFIP1-EIF4E-FMR1 complex which binds to the mRNA cap and mediates translational repression. In the CYFIP1-EIF4E-FMR1 complex this subunit mediates translation repression (By similarity). RNA-binding protein that plays a role in intracellular RNA transport and in the regulation of translation of target mRNAs. Associated with polysomes. May play a role in the transport of mRNA from the nucleus to the cytoplasm. Binds strongly to poly(G), binds moderately to poly(U) but shows very little binding to poly(A) or poly(C).

Subcellular location

Cytoplasm. Nucleus, nucleolus.

Tissue specificity

Highest levels found in neurons, brain, testis, placenta and lymphocytes. Also expressed in epithelial tissues and at very low levels in glial cells.

Domain

The tandem Tudor domains preferentially recognize trimethylated histone peptides (By similarity).

Disease

Defects in FMR1 are the cause of fragile X syndrome (FRAX) [MIM:300624]. Fragile X syndrome is a common genetic disease (has a prevalence of one in every 2000 children) which is characterized by moderate to severe mental retardation, macroorchidism (enlargement of the testicles), large ears, prominent jaw, and high-pitched, jocular speech. The defect in most fragile X syndrome patients results from an amplification of a CGG repeat region which is directly in front of the coding region.

11. MOLBIO_H23_konte_Bioinformatikk

Oppgaven består av tre spørsmål. Total 10 poeng.

I. Hva betyr funksjonell annotasjon? (2 poeng)

At man finner / identifiserer funksjonelle enheter eller elementer som påvirker regulering og ekspresjon.

II. Hva er den største statistiske utfordringen med mikromatriseeksperimenter? Nevn to statistiske metoder man kan bruke for å løse problemet? (4 poeng)

Antall variabler (=gener eller oligos) overstige antall observasjoner (prøver/pasienter)

Eksempler:

- *Bonferroni korreksjon*
- *FDR (False Discovery Rate)*
- *ANOVA*
- *Bootstrap*
- *PCA*

1 poeng per riktig eksempel. Kandidaten kan komme med andre riktige eksempler.

III. Hvorfor er det enklere å sekvensere genomet til bananflue enn det humane genomet? (4 poeng)

Bananflue har:

- *færre kromosomer og nukleotider*
- *høyere gnettetthet*
- *ikke så mange introns*
- *nesten ingen repeterte enheter*

12. MOLBIO_H23_konte_Nukleærmedisin

Du trekker opp 900 MBq ^{99m}Tc i en sprøyte klokken 09:00 som du skal injisere i en pasient klokken 15:00, hvor mye aktivitet er det da igjen i sprøyta? (2 poeng)

Halveringstiden til ^{99m}Tc er 6 timer. Formler for aktivitet som funksjon av tid:

$$A(t) = A_0 \left(\frac{1}{2}\right)^{t/T_{1/2}}$$
$$A(t) = A_0 e^{-\lambda t}$$
$$\lambda = \frac{0.6931}{T_{1/2}}$$

Velg ett alternativ

- 490 MBq
- 450 MBq
- 550 MBq
- 520 MBq

13. MOLBIO_H23_konte_Nukleærmedisin

1 poeng per riktig svar, minus 1 poeng per feil svar, maks 3 poeng, minimum 0 poeng.

Gamma foton er høyenergetisk elektromagnetisk stråling, detekteres av et SPECT-kamera.

Beta+ partikkel er antipartikkelen til elektronet, brukes til PET-avbildning.

Alfa partikkel er en partikkel som er identisk med en heliumkjerne, har kort rekkevidde og brukes til behandling.

14. MOLBIO_H23_konte_Nukleærmedisin

Oppgaven består av tre spørsmål. Totalt 9 poeng.

I. Forklar hvordan man kan benytte seg av avstand, tid og skjerming i forbindelse med strålevern.

(5 poeng)

- *Strålingen avtar i mange situasjoner som kvadrat av avstand, som betyr at en dobling av avstand betyr en fjerdedel av strålingsraten, så man kan begrense strålingen svært effektivt ved å øke avstanden sin til kilden.*
- *Stråling absorberes en viss mengde per tid, som betyr at vi bør begrense tiden vi befinner oss i nærheten av kildene, ved å arbeide effektivt.*
- *Skjerming kan brukes for å stoppe stråling mellom kilde og en selv, der det er mulig.*

II. I strålevern har vi prinsippet «ALARA». Hva menes med dette prinsippet?

(2 poeng)

ALARA står for «As low as reasonable achievable» og sier at rutiner og oppførsel skal gjøres på en slik måte at stråling som ikke er nyttig skal minimeres så langt det gjør seg praktisk gjennomføre.

III. Nevn to hovedgrunner til at et PET- eller et SPECT-kamera er kombinert med en CT for å danne et såkalt hybridkamera.

(2 poeng)

1. *Lokasjon, benytte et radiologisk bilde for å lokalisere hvor et opptak på SPECT- eller PET befinner seg.*
2. *Attenuasjonskorreksjon for å danne bedre bilder.*