

## EKSAMEN\_ordinær\_sensorveiledning

<b>Emnekode:</b> IRBIO30220	<b>Emnenavn:</b> Molekylær diagnostikk og bioinformatikk
<b>Dato:</b> 12.desember 2023 <b>Sensurfrist:</b> 2.januar 2023	<b>Eksamenstid:</b> 09.00-13.00 (+ 15 min) 4 timer
	<b>Faglærer:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Maria Dung Cao (emneansvarlig og kontaktperson)</li></ul> <b>Oppgaven er kontrollert: Ja</b>
<b>Hjelpemidler:</b> Tillatt hjelpemiddel: Kalkulator, med tomt minne, som ikke kan regne symbolsk eller kommunisere trådløst.	
<b>Om eksamensoppgaven:</b> Eksamensoppgaven består av tre hoveddeler, totalt 13 oppgaver. <ul style="list-style-type: none"><li>• Molekylær diagnostikk, 9 oppgaver</li><li>• Bioinformatikk, 2 oppgaver</li><li>• Nukleærmedisin, 2 oppgaver</li></ul> Hver oppgave kan ha flere delspørsmål. Oppgavene og delspørsmålene kan ha ulik vektning (oppgis i oppgaven).	
<b>Kandidaten må sørge for å besvare alle oppgaver og er selv ansvarlig for å kontrollere besvarelsen i Inpera sitt arkiv umiddelbart etter levering.</b>	

## 1. MOLBIO\_H23\_Molekylær patologi

Beskriv metodeprinsippet bak DNA ekstraksjon med magnetiske kuler. (5 poeng)

*DNA binder til magnetiske kuler i en saltløsning som dehydrerer DNAet. (1 poeng)*

*Ekstraheringen består av fire trinn: (1 poeng per riktig trinn)*

- 1. Lysering: Cellene blir lysert av lyseringsbuffer og proteinase K for å frigjøre DNA*
- 2. Binding: DNA binder til overflaten av de magnetiske kulene*
- 3. Vasking: Vaskeløsning med etanol brukes til å fjerne kontaminanter*
- 4. Eluering: DNA elueres ved bruk av elueringsbuffer eller nukleasefritt vann.*

## 2. MOLBIO\_H23\_Biomarkør, mikroRNA og sirkulerende DNA/RNA

Opgaven består av tre spørsmål. Totalt 10 poeng.

I. I forhold til kreftutvikling/sykdomsforløp hvordan kan en utnytte bruken av biomarkører?

Gi tre eksempler. (3 poeng)

- Risikovurdering: undersøke risiko for å utvikle en sykdom, eks. BRCA1/2 ved brystkreft*
- Diagnostisk: stille diagnose*
- Prognostisk: progresjon av sykdom eller sannsynligheten for tilbakefall*
- Prediktiv: identifisere pasienter som sannsynligvis kan oppleve en gunstig/ugunstig effekt av en spesifikk behandling*
- Respons: undersøke om pasienten har respondert på en behandling/medikament*
- Sikkerhet: undersøke toksisitet for eksempel før og etter behandling*
- Monitorering: følge med på sykdomsutvikling, så en kan ligge i forkant*

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

II. Hva er microRNA? Beskriv hovedfunksjonen til mikroRNA. (3 poeng)

*Små RNA molekyler med regulatorisk funksjon som ikke kan translateres til proteiner. Ofte 18-24 nukleotider lange. (1 poeng)*

*Bindingen av mikroRNA til mRNA kan enten øke eller redusere translasjonen av mRNA til proteiner. Derfor er mikroRNA med på å regulere genekspressjon gjennom en post-transkripsjonell modifisering av mRNA. (1 poeng)*

*MikroRNA bidrar med å regulere biologiske funksjoner som for eksempel celledifferensiering, utvikling og metabolisme (1 poeng)*

III. Forklar forskjellen mellom cf-DNA og ct-DNA. Hva kan ct-DNA brukes til? Gi et eksempel. (4 poeng)

*cf-DNA = cell-free/cellefritt DNA. Det er segmenter av DNA som befinner seg utenfor celler, og som finnes i ekstracellulært miljø. (1 poeng)*

*ctDNA = sirkulerende tumor DNA. Det er segmenter / fragmenter av DNA fra tumorceller som befinner seg i ekstracellulært miljø. (1 poeng)*

*Nivået av ctDNA i blodprøver kan gi informasjon om sykdommens omfang og karakter som har betydning for behandling og oppfølging ved en rekke kreftformer. (1 poeng)*

*1 poeng for riktig eksempel:*

- Identifisere tumor spesifikke variasjoner*
- Epigenetiske endringer*
- Mutasjonsanalyser*
- Markører eller hotspots (ex crc)*

### 3. MOLBIO\_H23\_OMICS, genespresjonsanalyser og DNA-metylering

Oppgaven består av fem multiple choice spørsmål.

(1 poeng per riktig svar, minus 1 poeng per feil svar, maks 8 poeng, minimum 0 poeng)

I. Er hele utsagnet sant eller usant? *"Eksempler på formål med å studere OMICS er for å forstå komplekse regulatoriske sammenhenger, og studere komplekse sykdommer og genfunksjoner"*

Velg et alternativ

- Usant
- Sant

II. Hva er riktig om transkriptomikk?

Velg ett eller flere alternativer

- RNA-seq kan brukes til å studere transkriptomikk.
- Transkriptomikk er studiet om fenotypiske egenskaper.
- DNA-seq kan brukes til å studere transkriptomikk.
- Transkriptomikk er studiet av transkriptomer.

III. Er hele utsagnet sant eller usant? *"Et kandidatgen er et gen av interesse som antas å være relatert til en bestemt egenskap. Genuttrykket av et kandidatgen er regulert avhengig av ulike faktorer"*

Velg et alternativ

- Usant
- Sant

IV. Hva er riktig om PCR?

Velg ett eller flere alternativer

- Relativ kvantifisering kan benyttes for å studere opp- og nedregulering av utvalgte gener.
- Ved absolutt kvantifisering benyttes en standardkurve for å bestemme eksakt mengde templat i prøven.
- Relativ kvantifisering benyttes kun for å påvise om et patogen er til stede i en pasientprøve eller ikke.
- Ved bruk av real-time PCR vil et lavt syklusnummer indikere at det er lite målspecifikt DNA i prøven.

V. Hva er riktig om DNA-metylering?

Velg ett eller flere alternativer

- DNA-metylering er en irreversibel prosess.
- DNA-metylering kan ikke arves til datterceller.
- DNA-metylering er en prosess hvor en metylgruppe fester seg til DNA-et.
- DNA-metylering fører som oftest til «gene silencing».

#### 4. MOLBIO\_H23\_OMICS, genespresjonsanalyser og DNA-metylering

Oppgaven består tre spørsmål. Totalt 6 poeng.

I. Hvilke analysemetoder kan man bruke i OMICS studier? Nevn fire eksempler. (2 poeng)

*Eksempler: NGS, mikromatriser, sekvensering, GC-MS, NMR, RNAseq*

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

II. Hvilke statistiske metoder kan man anvende for å analysere dataene i OMICS studier? Nevn fire eksempler. (2 poeng)

*Eksempler: Korrelasjonsanalyser, klustering, differensielt gen ekspresjonsanalyse, PCA, ANOVA, AI, network mapping, protein-protein interaksjon.*

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

III. Forklar kort hva som menes med endogen kontroll i genespresjonsanalyser. (2 poeng)

- Her benyttes et cellulært vedlikeholdsgen som regulerer grunnleggende cellulære funksjoner.*
- Genuttrykket av et slikt gen skal være konstant, og denne kontrollen må testes for alle nye stimuli som systemet utsettes for.*

#### 5. MOLBIO\_H23\_Kromatografi

Oppgaven består av to spørsmål. Totalt 5 poeng.

I. Forklar kort prinsippene for hvordan forbindelser separeres ved kromatografi. (2,5 poeng)

*I et kromatografisk system er det to faser, en stasjonær fase og en mobil fase. En forbindelse vil være i ro når den er i den stasjonære fasen, og vil bevege seg gjennom systemet når den er i den mobile fasen. Hastigheten til en forbindelse gjennom systemet er avhengig av fordelingen av forbindelsen mellom stasjonær og mobil fase. For at to forbindelser skal bli separert må de ha ulik fordeling, og derfor ulik vandringshastighet gjennom systemet.*

II. Du skal separere 3 forbindelser, A, B og C, ved omvendt fase væskechromatografi. Forbindelse A er mest polar, B er medium polar og C er minst polar.

Angi og begrunn i hvilken rekkefølge forbindelsene vil bli eluert. (2,5 poeng)

*Ved omvendt fase er stasjonærfasen upolar og mobilfasen polar. Dette betyr at upolare forbindelser har høyere retensjon (retarderes mer) enn polare forbindelser. Forbindelse A (mest polar) vil elueres først, deretter B (medium polar) og til slutt C (minst polar).*

## 6. MOLBIO\_H23\_Sekvensering

Oppgaven består av to spørsmål. Totalt 8 poeng.

I. Hva er helgenomsekvensering? Nevn tre utfordringer/ulemper med denne typen sekvensering. (4 poeng)

*Sekvenserer komplett DNA sekvens (strengt tatt nukleotidsekvens) for én organisme på én gang. (1 poeng)*

*Ulemper/utfordringer*

- *Krever spesialkunnskap og -instrumentering av laben*
- *Store mengder data som må analyseres, tolkes og oppbevares*
- *Ingen standard for hvordan tolke data inkl hvilke mikrobedatabaser som skal brukes for identifisering/sammenligning*
- *Ingen standard nomenklatur/navnsetting*

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

II. Du har fått en prøve på en pasient som viser kliniske tegn til infeksjon, men du får ingen vekst ved dyrkning. Du prøver deg med sekvensering. Nevn to typer sekvensering du kan bruke for å påvise mulig(e) patogen(er) og hvorfor? (4 poeng)

*Enten **amplicon sekvensering** av 16S rRNA genet – da vil du kun påvise eventuelle bakterier. (2 poeng)*

*eller **metagenomisk sekvensering** – sekvenserer alle nukleinsyrer i én prøve, da vil du i teorien kunne påvise enhver mikroorganisme som befinner seg i prøven. (2 poeng)*

## 7. MOLBIO\_H23\_Rettsmedisin og bioteknologiloven

Oppgaven består av to spørsmål. Totalt 10 poeng.

I. Hva er en STR (Short Tandem Repeat) og hva kan resultatet fra STR brukes til innen rettsmedisin? (5 poeng)

- *STR er et område av DNA bestående av korte nukleotid-sekvenser som blir repetert mange ganger etter hverandre.*
- *Antall ganger nukleotid-sekvensen blir repetert, vil variere mellom individer og være unik for hvert individ.*
- *STRene som benyttes ligger i ikke kodende områder og gir ingen andre informasjon, foruten kjønn.*
- *STR resultatet brukes til å lage en unik DNA-profil*
- *STR DNA-profilen brukes til å sammenligne med andre DNA-profiler/referanseprofiler*

*1 poeng per riktig punkt.*

II. For hvilke formål er det tillatt å forske på befruktende egg i Norge? Hvilke befruktende egg er det lov å forske på og hvor lenge er det lov å forske på egg som er befruktet? (3 poeng)

- *Formål: Utvikling/forbedring metoder for IVF, diagnostikk eller framtidig behandling av alvorlig sykdom.*
- *Det er lov å forske på overtallige egg etter IVF eller preimplantasjonsdiagnostikk.*
- *Det er lov å forske på befruktete egg inntil 14 dager etter befruktning.*

III. Hvilke forbud gjelder for forskning av befruktende egg? Nevn to eksempler (2 poeng)

- *Det er forbud mot å befrukte egg for å forske på dem*
- *Det er forbud mot forskning på menneskeembryo/cellelinjer fremstilt ved kloning*
- *Befruktede egg/ kjønnsceller brukt i forskning må ikke settes inn i en kvinne, men skal destrueres.*

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

## 8. MOLBIO\_H23\_Medisinsk genetikk

Opggaven består av fire multiple choice spørsmål.

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

I. Velg alle riktige utsagn:

Velg ett eller flere alternativer

- Vanlige symptomer ved laktoseintoleranse er magesmerter, luftplager og diaré.*
- Laktoseintoleranse kalles også for laktasepersistens
- Primær laktoseintoleranse skyldes nedsatt evne til å produsere laktase etter 3-4 års alderen*
- Diagnosen laktoseintoleranse stilles vanligvis ved hjelp av kliniske opplysninger og eventuelt gentest.*

II. Velg alle riktige utsagn:

Velg ett eller flere alternativer

- Laktoseintoleranse skyldes en mutasjon i laktasegenet
- Genetisk polymorfisme er en endring i den genetiske koden som finnes i > 1 % av populasjonen.*
- Laktasepersistens skyldes en mutasjon i laktasegenet
- SNP er en endring i en enkelt base i den genetiske koden som finnes i > 1 % av populasjonen.*

III. Velg alle riktige utsagn:

Velg ett eller flere alternativer

- Blokkinggruppen blir brukt som bindingssete for universal primer
- RNase H2 enzymer spalter kun primere som er komplementær bundet til målsekvensen og fjerner deretter RNA-basen og blokkinggruppen.*
- Blokkinggruppen blir brukt som bindingsseter for universal probe 1 og 2
- Fordelen med å bruke RNA-base og blokkinggruppe i en primer er for å redusere uspesifikk DNA polymisering.*

IV. Velg alle riktige utsagn:

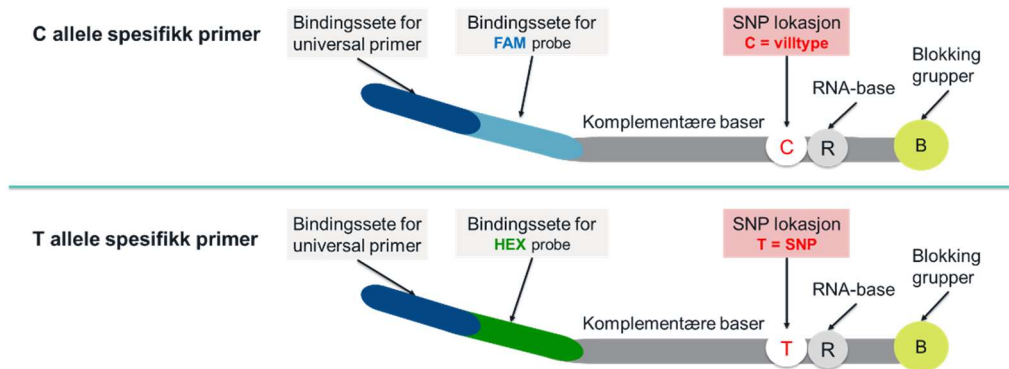
Velg ett eller flere alternativer

- Working solution på Qubit inneholder fluoriserende stoff som binder spesifikk til det vi ønsker å måle. Derfor kan ikke renheten av DNA eller RNA måles på Qubit.*
- DNA eller RNA prøver kan måles på Nanodrop uten å bruke egne reagenser.*
- Nanodrop kan måle renheten av nukleinsyrer ved å måle 260/280 ratio og 260/230 ratio.*
- Qubit kan måle graden av kontaminasjon i prøven av proteiner og organiske stoffer.

## 9. MOLBIO\_H23\_Medisinsk genetikk

Opgaven består av to spørsmål. Totalt 10 poeng.

I. Tegn oppbyggingen av allele spesifikke primere (både for T allele og C allele) som ble brukt i rhAmp SNP laktase-gentotyping. Alle delene skal være oppgitt. (4 poeng)



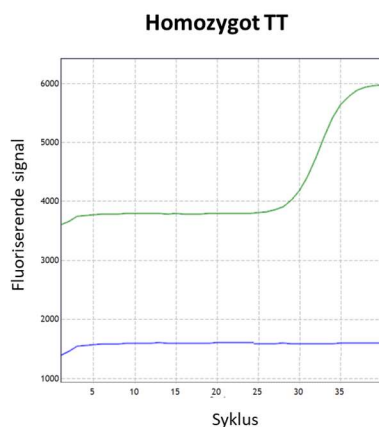
II. Tegn og forklar hvordan resultater fra rhAmp SNP laktase-gentotyping kan tolkes ved bruk av FAM og HEX merket prober?

Kandidaten skal tegne og forklare følgende resultater.

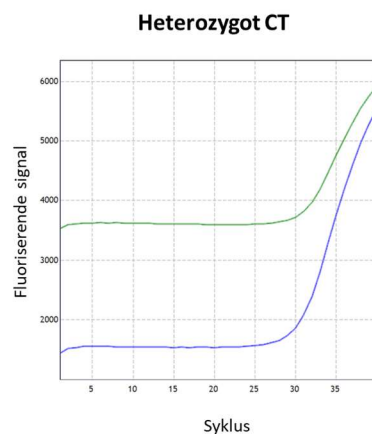
- Homozygot TT
- Homozygot CC
- Heterozygot CT

Husk å skrive hva som skal stå på y-akse og x-akse.

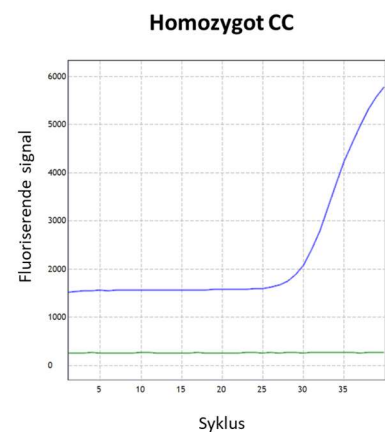
(6 poeng)



Prøve med homozygot for TT har økt fluoreserende signal fra HEX proben (grønn). Det betyr at begge allelene er mutert/SNP.



Prøve med heterozygot for CT har økt fluoreserende signal fra både HEX proben og FAM proben. Det vil si ett allele er mutert og ett allele er villtype (ikke mutert).



Prøve med homozygot for CC har økt fluoreserende signal fra FAM proben (blå). Det betyr at begge allelene er villtype (ikke mutert).

2 poeng per riktig tegning og forklaring.

## 10. MOLBIO\_H23\_Bioinformatikk

Oppgaven består av tre multiple choice spørsmål.

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

I. Er dette utsagnet sant eller usant: "Mikromatriser er basert på hybridisering og RNA-seq er basert på kloning og sekvensering"

Velg et alternativ

- Sant
- Usant

II. For å finne nye gener, så kan man bruke

Velg ett alternativ

- Mikromatriser og RNA sekvensering
- Mikromatriser, men ikke RNA sekvensering
- RNA sekvensering, men ikke mikromatriser

III. Hvilken metode er best egnet for å undersøke gener som er lavt, middels og høyt uttrykt? (Det vil si, hvilken metode har en høy dynamisk området)?

Velg ett alternativ

- mikroRNA analyser
- RNA sekvensering
- Mikromatriser

## 11. MOLBIO\_H23\_Bioinformatikk

Oppgaven består av to spørsmål. Totalt 10 poeng.

I. Nevn de fem hovedtrinnene i et mikromatriseeksperiment. (4 poeng)

1. Ekstrahere RNA og lage cDNA
2. Tilsett fluorescerende markør
3. Hybridisering til mikromatrise
4. Scanne intensiteten
5. (Filtering) Analyse

II. Forklar to av årsakene til at proteinsekvenser bør brukes til sammenstillinger framfor DNA-sekvenser?

Begrunn svaret. (6 poeng)

1. Hensynet til leserammen

*En mutasjon som endrer leserammen endrer ofte aminosyresammensetningen betydelig, og dermed også funksjon og/eller struktur. En sekvenssammenstilling må derfor ta hensyn til leserammen. En enkel og effektiv måte å gjøre dette på, er å bruke proteinsekvensen, i stedet for DNA-sekvensen.*

2. «Silent mutations»

*Flere kodoner kan kode for samme aminosyre. En mutasjon fra etedret kodon til ett annet kodon for samme aminosyre, vil ikke påvirke proteinet. Disse mutasjonene tolleres derfor, og forekommer oftere enn andre mutasjoner. Om man bruker aminosyresekvensen, og ikke DNA-sekvensen, vil man ta hensyn til dette*

3. Mutasjoner til aminosyrer med lignende fysiokjemiske egenskaper

*Noen aminosyrer har lignende fysiokjemiske egenskaper. Mutasjoner som fører til at man endrer fra en aminosyre til en annen aminosyre med samme egenskaper, vil trolig ikke endre funksjonen eller strukturen til ett protein. Slike mutasjoner tolereres derfor i stor grad, og er mer sannsynlig enn mutasjoner som endrer struktur/funksjon. Om man benytter proteinsekvenser i sammenstillinger, så hensyntas dette.*

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



## 12. MOLBIO\_H23\_Nukleærmedisin beregning

### Beregningsoppgave.

Oppgaven består av to multiple choice spørsmål.

(2 poeng per riktig svar, minus 2 poeng per feil svar, maks 4 poeng, minimum 0 poeng)

I. Du trekker opp 800 MBq <sup>99m</sup>Tc i en sprøyte klokken 09:00 som du skal injisere i en pasient klokken 13:00, hvor mye aktivitet er det da igjen i sprøyta?

Halveringstiden til <sup>99m</sup>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

- 550 MBq
- 520 MBq
- 490 MBq
- 504 MBq

II. Du står én meter fra en strålekilde, og strålingen per time du mottar fra den er 10 uSv/time. Hvor mye stråling fra denne kilden mottar du per tid dersom du øker avstanden til 2 meter?

Du kan anta at omvendt kvadratlov for stråling gjelder:

$$D(x) = D_0 \frac{1}{(x/x_0)^2}$$

Velg ett alternativ

- 5 uSv/t
- Fremdeles 10 uSv/t
- 20 uSv/t
- 2,5 uSv/t

### 13. MOLBIO\_H23\_Nukleærmedisin

Oppgaven består av tre spørsmål. Totalt 11 poeng.

I. I nukleærmedisin møter vi i hovedsak tre typer stråling fra radioaktive kilder, alfa, beta og gammastråling. Ranger i dem i rekkefølge fra minst til mest evne til å trenge igjennom materie, og kommenter hvilke type stråling som egner seg best for henholdsvis behandling og diagnostikk. (4 poeng)

*Korrekt rekkefølge: alfa, beta og til slutt gamma etter evne til å trenge igjennom materialer. (1 poeng)*

*Alfa og beta-stråling er egnet til behandling fordi de avsetter energien sin innenfor et svært nært område av det radioaktive stoffet. (2 poeng)*

*Gammastråler er egnet for diagnostikk siden rekkevidden er lang og mye av strålingen trenger igjennom pasienten. (1 poeng)*

II. Forklar effektiviteten til blyfrakk i forbindelse med relativt lavenergetiske fotoner (som for eksempel  $^{99m}\text{Tc}$  som benyttes i SPECT-avbildning) i forhold til høyenergetiske fotoner (som vi for eksempel får fra positron-emittere som  $^{18}\text{F}$  som brukes i PET-avbildning). (3 poeng)

*En blyfrakk er mest effektiv for relativt lave fotonenergier, for eksempel for  $^{99m}\text{Tc}$ -fotoner som har en energi på rundt 140 keV vil det meste av strålingen bli absorbert i en typisk blyfrakk. (1,5 poeng)*

*For mer høyenergetiske fotoner, slik som de fra  $^{18}\text{F}$ , vil mengden bly som trengs være forhindrende stor, og dermed ha svært liten nytte. (1,5 poeng)*

III. Forklar med tre-fire setninger forskjellen mellom et SPECT-kamera og et PET-kamera, du bør ha med formen på detektorene og hvor mange fotoner som inngår i en deteksjon for å lage et bilde. (4 poeng)

- Et SPECT-kamera består (som regel) av flate detektorer som vil gå i en ring rundt pasienten.*
- Den detekterer fotoner enkeltvis, beholder fotoner som treffer normalt på detektoren og bruker disse for å konstruere bilder, radionuklider som avbildes med denne teknikken er gamma-emittere.*
- PET-detektoren er formet som en ring rundt pasienten*
- Den detekterer to og to fotoner som kommer fra anhillasjoner fra en positronemitter.*

*1 poeng per riktig punkt.*