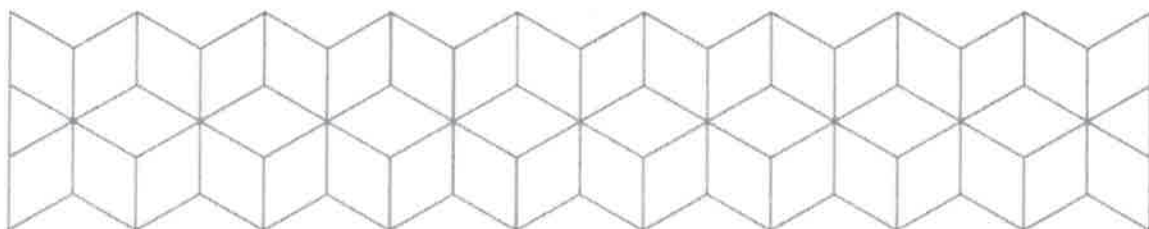


SENSORVEILEDNING

Emnekode:	IRBIO24016
Emnenavn:	Celle- og molekylærbiologi
Eksamensform:	Skriftlig
Dato:	9.november 2018 kl.09.00-13.00
Faglærer(e):	Maria Dung Cao Mette Lundstrøm Dahl Norunn Konstanse Storbakk
Eventuelt:	Eksamensoppgaven består av fire oppgaver med delspørsmål a, b, og c. Løsningsforslaget bør printes ut i farger.



Sensorveiledning

Sensorveiledning		
<p>Sensorveiledningen skal sikre en faglig forsvarlig og upartisk vurdering. Den bør derfor blant annet sikre at sensor har innsikt i hva som har vært fokus i undervisningen, og at sensor er kjent med hvilke deler av emnets innhold og undervisning som er særlig relevante for vurderingen. Ved klage på karakter har sensorveiledningen en særlig viktig funksjon: den skal bidra til at klagesensor så langt mulig har samme informasjonsgrunnlag som første sensor.</p>		
Emnekode	Tittel	Semester
IRBIO24016	Celle- og molekylærbiologi	HØST 2018
Læringsutbytte for emnet: Emneplan med beskrivelse av læringsutbytte følger vedlagt. Hvis det er aktuelt, kan man her peke på deler av læringsutbyttet som er særskilt relevante for denne eksamenen.		
Mikrobiologi Studentene skal kunne		
<ul style="list-style-type: none">• tegne og beskrive prokaryote cellers oppbygning og funksjon• gi en oversikt over eukaryote mikroorganismer og deres karakteristika• forklare begrepene biofilm og quorum sensing• tegne og beskrive en bakteriell vekstkurve• beskrive hvilken betydning osmotisk trykk har på mikrobiell vekst• klassifisere mikroorganismer basert på deres oksygenkrav• beskrive ulike metoder for å begrense eller stoppe mikrobiell vekst• sterilteknikk• beskrive og forklare prinsippene for de mest grunnleggende undersøkelsene for påvisning av bakterier, inkludert trinnene i gramfarging• forklare betingelser for vekst hos bakterier, og beskrive hvordan kunnskapen kan benyttes i identifikasjon av bakteriene		
Molekylær genetikk Studentene skal kunne		
<ul style="list-style-type: none">• gjøre rede for oppbygningen og funksjon til DNA• angi forskjeller mellom DNA og RNA• beskrive form og funksjon til mRNA, tRNA, rRNA• illustrere flyten av genetisk informasjon fra DNA til protein• gi en oversikt over struktureringen av genetisk materiale i det humane genom• forklare hvordan og hvorfor replikasjon av DNA foregår• kjenne til hvordan og hvorfor reparasjon av DNA foregår med fokus på "mismatch repair"• forklare hva revers transkripsjon er• forklare hvordan transkripsjon initieres, elongeres og termineres i prokaryoter• beskrive mRNA-prosessering: 5'-cap, 3'-hale og RNA-splicing• kjenne til ulike faktorer som regulerer transkripsjon/genuttrykk• beskrive proteinsyntese og de sentrale makromolekylene som inngår i prosessen• kjenne til begrepet epigenetikk		

Virus

Studentene skal kunne

- definere virus
- beskrive forskjellen mellom virus og en obligat intracellulær prokaryot celle
- angi hva virusgenom koder for
- angi hva virusgenom ikke koder for
- beskrive morfologi
- forklare grunnlaget for Baltimors klassifikasjon av virus
- gi eksempler på replikasjonsstrategier til DNA- og RNA-virus
- beskrive eksempler på cytopatisk effekt (CPE)
- beskrive prinsippet for plaque assay
- beskrive bakteriofags lytiske og lysogene livssyklus
- sammenligne virusreplikasjon i dyreceller og bakterier
- beskrive resultatet av lysogeni
- beskrive henholdsvis generell og spesialisert transduksjon
- forklare henholdsvis akutt, kronisk og latent virusinfeksjon

Mikrobiell genetikk og molekylærbiologiske metoder

Studentene skal kunne

- angi forskjeller og likheter mellom prokaryot og eukaryot genetisk materiale
- beskrive genoverføring og rekombinasjon mellom bakterier (konjugasjon, transduksjon og transformasjon)
- forklare hvordan Lac-operon reguleres
- forklare hva en DNA-vektor er og gi eksempler på nytteverdi av disse
- forklare hva restriksjonsenzym er og nytteverdien innen rekombinant DNA teknologi
- redegjøre for konvensjonell polymerasekjedereaksjon (PCR) både mhp ingredienser og temperatursykluser
- ha kjennskap til real-time PCR/qPCR
- utføre enkle, grunnleggende genteknologiske metoder på laboratoriet

Eukaryot cellebiologi

Studentene skal kunne

- beskrive generelle mekanismer for proteinsortering i eukaryote celler
- redegjøre for hvordan proteiner går inn i og gjennom sekretorisk vei
- kunne gi eksempler på proteiner som bruker sekretorisk vei med ulik destinasjon
- forklare hvordan GTPaser reguleres av GEF og GAP
- vite hva kinaser og fosfataser er
- definere endokrin, parakrin og autokrin signaloverføring
- kjenne til hvordan celler kommuniserer vha ekstracellulære signalmolekyler
- sammenlikne overflatereseptorene RTK og GPCR
- beskrive Ras-MAPK kaskaden
- gjøre rede for de ulike fasene i en eukaryot cellesyklus
- forklare formålet og resultatet av både mitose og meiose
- vite hvorfor det finnes sjekkpunkter i eukaryot cellesyklus
- forklare hva cyclin-avhengige kinaser er og deres funksjon i cellesyklus
- skal ha kjennskap til generelle prinsipper i cancerutvikling
- skal kunne beskrive egenskaper en kreftcelle kan tilegne seg
- skal kunne definere hva oncogener og tumor suppressorgener er
- forklare hva en stamcelle er og gi eksempler på ulike typer av disse
- gi eksempler på hva stamceller kan brukes til i medisin

Litteraturliste

Pensum/litteraturliste følger vedlagt. Hvis det er aktuelt, kan man her peke på pensumdelar som er spesielt relevante for det enkelte eksamensspørsmål.

Anbefalt litteratur

Tortora, Gerard J. Berdell R. Funke & Christine L. Case (2016). Microbiology: an introduction. (12. utg) San Francisco, Calif. : Pearson/Bemjamin Cummnings.

Sj Sjøberg, Nils Olav (2013). Molekylær genetikk: genteknologi - humant DNA, 333 s. (5. utg.) Nesbru : Vett & viten ISBN 978-82-412-0702-0

Cooper, Geoffrey M. Robert E. Hausman (2014). The cell : a molecular approach. (7. utg.) Washington : ASM Press/Sinauer Associates

Papachristodoulou, Despo. Alison Snape, William H. Elliot & Daphne C. Elliot., (2014) Biochemistry & Molecular Biology, (5. utg) Oxford, ISBN 978 019 960949 9

Undervisning

Forelesningsplan og/eller timeplan følger vedlagt. Hvis det er aktuelt, kan man her kommentere vektleggingen av ulike deler av pensum i undervisningen, hvilke undervisningsmetoder som er brukt, og evt. annen informasjon om gjennomføringen av undervisningen/emnet som er relevant for å kunne vurdere besvarelsene på en best mulig måte.

UKE	DAG	TID	ROM	TEMA
MIKROBIOLOGI				
34	Man 20.08.2018	8.15-10.00	S-222	Introduksjon til generell mikrobiologi
	Tirs 21.08.2018	8.15-10.00	S-222	Prokaryote celler
	Ons 22.08.2018	8.15-10.00	S-222	Prokaryote celler. Mikrobielle metabolisme
35	Man 27.08.2018	8.15-10.00	S-222	Mikrobiell vekst
	Tirs 28.08.2018	8.15-10.00	S-222	Mikrobiell vekstkontroll
	Ons 29.08.2018	8.15-10.00	S-222	Intro til lab - obligatorisk Dyrkning og identifikasjon av bakterier
36	Man 03.09.2018 Tirs 04.09.2018	09.15-16.00	H-126/ H-127	Lab I mikrobiologi - obligatorisk
GENETIKK				
36	Fre 07.09.2018	13.15-16.00	S-222	Det humane genom
	Tirs 11.09.2018	10.15-12.00	S-223	Replikasjon og reparasjon av DNA
37	Ons 12.09.2018	8.15-10.00	S-222	Transkripsjon og genuttrykk
	Tors 13.09.2018	8.15-10.00	S-222	Translasjon / Proteinsyntese
38	Tirs 18.09.2018	12.15-16.00	S-222	Seminar - obligatorisk «Etikk ved assistert befruktning» og «Epi-genetikk»
VIRUS				
39	Man 24.09.2018	8.15-10.00	S-222	Virus
	Tirs 25.09.2018	11.15-13.00	S-222	Virus
	Tors 27.09.2018	8.15-10.00	A-314	Virus
	Fre 28.09.2018	8.15-10.00	S-222	Virus
MIKROBIELL GENETIKK OG MOLEKYLÆRBIOLOGISKE METODER				
40	Man 01.10.2018	8.15-10.00	S-222	Mikrobiell genetikk og molekylærbiologiske metoder
	Tirs 02.10.2018	8.15-10.00	S-222	Molekylærbiologiske metoder
	Ons 03.10.2018	8.15-10.00	S-222	Molekylærbiologiske metoder
EUKARYOT CELLEBIOLOGI				
41	Man 08.10.2018	8.15-10.00	S-222	Cellesyklus
	Tirs 09.10.2018	8.15-10.00	S-222	Proteinsortering: sekretorisk vei
	Ons 10.10.2018	8.15-10.00	A-314	Cellekommunikasjon og signalveier
	Tors 11.10.2018	8.15-10.00	S-222	Stamceller
	Fre 12.10.2018	8.15-10.00	S-222	Cancer
44	Man 29.10.2018 Tirs 30.10.2018 Ons 31.10.2018 Tors 01.11.2018	9.15-16.00 9.15-16.00 9.15-16.00 8.15-14.00	H-126/ H-127	Lab I genetikk - obligatorisk

Løsningsforslag

- Korrekt figur + alle punkter i blå skrift: karakter C til B.
- Korrekt figur + alle punkter i blå skrift + innhold i rød skrift: mot karakter A

Oppgave 1

- a) Hva er cyclin-avhengige kinaser (Cdks) og cycliner? Beskriv mekanismer for regulering av Cdks.

Cdks er enzymatiske proteiner som sammen med tilhørende cycliner danner komplekser som fosforylerer andre proteiner nødvendig for progresjonen i cellyklusen. Cycliner er regulatoriske proteiner uten enzymatisk aktivitet, men som kan regulere aktiviteten til Cdks. Det finnes flere ulike Cdk/Cyclin komplekser som aktiveres i de forskjellige fasene i cellyklusen. *Eks. Cdk1/CyclinB kompleks som regulerer progresjonen fra G2 til M fasen.*

4 mekanismer for Cdk regulering:

1. Binding av cycliner. Konsentrasjonen av cycliner i cellen varierer gjennom cellyklusen. Ved lav cyclin konsentrasjon vil Cdk og cyclin dissosiere fra hverandre og Cdk mister sin enzymatiske aktivitet.
*Eks. Cyclin B syntetiseres i G2 → binder og aktiverer Cdk1.
Cyclin B degraderes i slutten av M fasen → dissosiere fra Cdk1, Cdk1 mister sin enzymatisk aktivitet*
2. Fosforylering av Thr 161 kreves for aktivitet. *Fosforyleringen er katalysert av CDK activating kinase (CAK).*
3. Defosforylering av Thr 14 og Tyr 15 kreves for aktivitet. *Defosforyleringen skjer ved hjelp av en fosfatase Cdc25.*
4. Cyclin-avhengige kinase inhibitor (CKI). CKI hemmer Cdks og bremser cellyklus. *Eks. p21.*

- b) Beskriv funksjonen til:

- i. Somatiske stamceller
Stamceller som finnes som sub-populasjoner i de fleste vev i kroppen og kan differensiere til ulike celletyper i aktuelt vev. Somatiske stamceller er viktig for vedlikehold av kroppens vev (homeostase). *Spesielt viktig for vev som fornyes kontinuerlig eks. blodceller, epitelceller i tarm og hud.*
- ii. Signal recognition particle (SRP)
SRP er et protein involvert i proteinsortering i cellen. I cytosolen binder SRP både signal sekvensen og ribosomet og medfører at translasjonen stopper opp. SRP binder da til SRP reseptor på ER membranen og proteinet blir sortert via den sekretoriske veien. *Ribosomet fester seg til en translokator på ER membranen. SRP dissosieres fra SRP reseptoren og signal frekvensen kan føres gjennom translokatoren samtidig som translasjonen fortsetter, kalles derfor for co-translasjon.*

iii. Kinetokor mikrotubuli

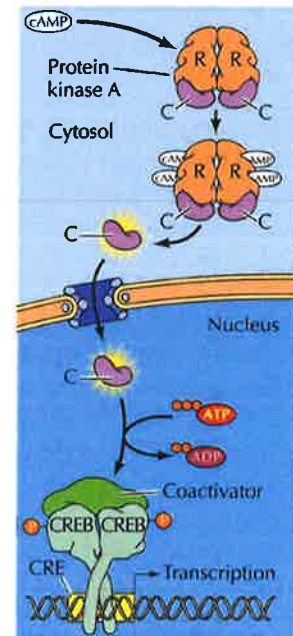
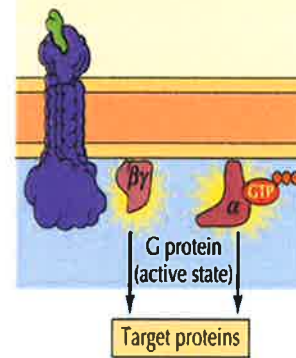
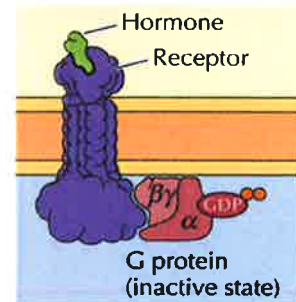
Mikrotubuli som er festet til kinetokor på kromosomet og sentrosom. En del av mitotisk spindelapparat. Bidra til at søsterkromatider separeres ved celledeling.

c) Gi et eksempel og forklar signaloverføring som starter med bindingen av en ligand til en G-protein koblende reseptor (GPCR) og ender opp med regulering av genuttrykk. Signaloverføringen skal inneholde cAMP.

- Ligandbinding eks. hormon → strukturforandring i GPCR
- GPCR blir til en GEF (guanine exchange factor)
- Stimulerer utveksling av GDP → GTP
- GPCR aktiverer G-proteinet (*en GTPase bestående av tre sub-enheter, kalles heterotrimeriske GTPase*)
- Aktivt G-protein: α er bundet til GTP
- Både GTP- α og β/γ kan videreføre signaler

cAMP er en viktig sekundærbudbringer i signaloverføring fra GPCR. *cAMP binder til de regulatoriske sub-enhetene til protein kinase A og medfører strukturforandring → dissosiering og aktivering av katalytiske sub-enheter til protein kinase A (merket C på figuren).* Protein kinase A katalytiske sub-enhet aktivert av cAMP translokeres inn i cellekjernen. I cellekjernen fosforylerer protein A katalytisk sub-enhet transkripsjonsfaktor CREB og regulerer genuttrykk.

Illustrasjon er ikke et krav. *Pluss for riktig illustrasjon.*



Oppgave 2

a) Hva er:

- i. Semikonservativ replikasjon?
Resulterer i to nye og to gamle tråder i de nye DNA molekylene (halvparten er gamle og halvparten er nye)
Begge trådene fungerer som templat.
- ii. Exons?
DNA-sekvenser i eukaryote celler som koder for proteiner.
Flere exons limes sammen (RNA spleising) til modent mRNA.
- iii. Transkripsjonsfaktorer (TF)?
Proteiner som regulerer genuttrykk. Kan fremme eller hemme.
Regulerer aktiviteten til RNA-pol II og hvordan disse binder seg til promoter.
- iv. Transformasjon?
Opptak av fritt/nakent DNA fra omgivelsene.
Enten biter av DNA-molekyler eller hele plasmider.

b) Endomorf-1 er et endogent opioid tetrapeptid som binder seg til opioidreseptorer i kroppen. Stoffet inneholder følgende aminosyrerekkefølge: Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂

Angi en mRNA sekvens som kan kode for dette tetrapeptidet.

TABLE 4.1 The Genetic Code

First position	Second position				Third position
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	stop	stop	A
	Leu	Ser	stop	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

Flere svarmuligheter:

Tyr: UAU/UAC

Pro: CCU/CCC/CCA/CCG

Trp: UGG

Phe: UUU/UUC

A hvis riktig baserekkefølge. Trekk for hver base/triplett som er feil.

- c) Hva menes med en vektor i molekylærbiologien, og hvilke elementer bør en slik inneholde? Gi en beskrivelse av funksjonen til de ulike elementene.

Et kunstig fremstilt DNA-molekyl som er bærer av genetiske sekvenser/gener.

Et verktøy i bl.a. kloning.

Brukes til å overføre genetisk materiale inn i en celle. *Formål: multiplisere, isolere eller uttrykke fremmed DNA i cellen.*

Må inneholde:

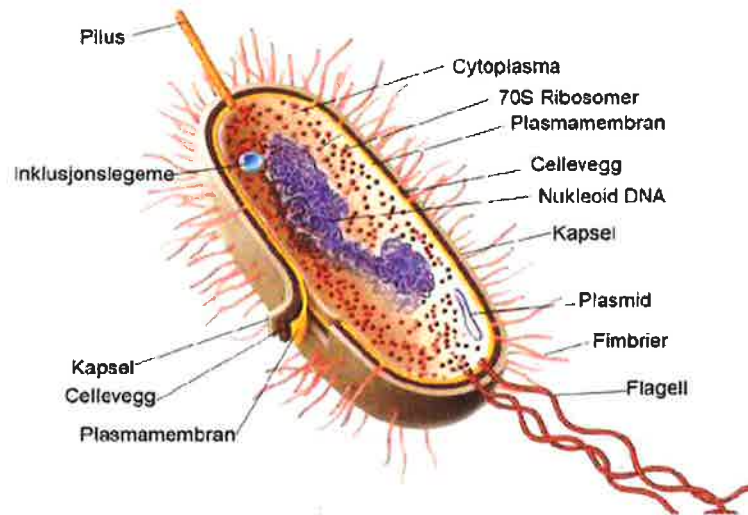
ORI: En spesifikk sekvens på plasmidet som fungerer som startsted for replikasjon. *Dette må til for at vektoren kan formere seg i en vertscelle.*

Multipelt kloningssted (MCS): restriksjonsenzymkassett som muliggjør klipp og lim med ett eller flere restriksjonszymer. *MCS er ofte konstruert slik at ved klipp og lim her brytes et gen som styrer en egenskap, f.eks brudd i lacZ-genet slik at betagalaktosidase ikke lenger kan produseres (blå-hvit screening). Mangel på egenskapen fungerer som «bevis» på at vi har fått limt inn et innskudd.*

Markør for seleksjon: kun celler som har mottatt vektor vil selekteres. *Vanlig at dette er et gen som koder for resistens, f.eks ampicillinresistens.*

Oppgave 3

- a) Tegn en typisk prokaryot celle.
Angi funksjonen til alle komponentene



Kapsel: Glycocalyx, sukkerkåpe: Fast eller løst organisert. Hindrer dehydrering og fagocytose (*virulensfaktor: sykdomsfremkallende*).

Flageller: for bevegelse. (*Antall og plassering varierer. Ikke alle bakterier har.*)

Fimbrier, adhesin som klistrer: kolonisering (*virulensfaktor*)

Pili: for bevegelse eller for DNA overføring (konjugasjon)

Cellevegg, peptidoglykan. Tykkelse varierer på Gram+ og Gram-. (*Lipopolysakkarid –LPS i G- vegg. Arkebakterier mangler peptidoglykan*)

Plasmamembran: semipermeabel barriere.

Inklusjonslegemer: næringsstoffer samlet i korn/granuler. Hindrer økt osmotisk trykk

DNA: sirkulært ds DNA (ikke cellekjerne.) **Trekk for tegning hvor kromosomet har løs (lineær) ende**

Plasmid: ekstrakromosomalt DNA. Ikke nødvendig i cella, men kan være nyttig pga egenskaper som f.eks antibiotikaresistens. (*Replikasjonen uavhengig celledeling, en eller flere av samme, eller ulike plasmider, i en celle*)

70S ribosomer: for proteinsyntese (*eukaryote: 80S*)

b) Forklar begrepet biofilm.

Samfunn av mikroorganismer (bakterier, arkebakterier, protozoer, sopp) omgitt av slimlag som dekker overflaten til levende og ikke-levende overflater.

Slimlaget: ekstracellulær polymerisk substans:- polysakkarider, proteiner og DNA

-Letter kommunikasjonen. *Pluss dersom beskriver **Quorum sensing**: kjemisk celle-celle kommunikasjon for koordinering - produksjon, sekresjon og deteksjon av signalmolekyler som regulerer genuttrykk.*

Resultat: koordinert aktivitet som f.eks toksin/antibiotika sekresjon til gjensidig beskyttelse

-Letter muligheten for horisontal genutveksling; skaper nye egenskaper. *Pluss dersom nevner problem for oss: sprer antibiotikaresistens.*

-Gir næring og beskyttelse, bl.a mot antibiotika og desinfeksjonsmidler. *Pluss dersom nevner problem for oss: antimikrobielle midler som fungerer i en test/på lab, fungerer dårlig ute på mikroorganismer som lever i biofilm.*

Pluss for annen relevant informasjon/utdyping.

c) Bakteriernes behov for oksygen varierer.

Hva er grunnen til denne variasjonen?

Hvordan kan vi gruppere bakteriene basert på oksygenbehovet?

Delvis redusert oksygen er svært reaktivt (frie oksygenradikaler = giftig oksygen). Reagerer med cellekomponentene; cellene skades/dør.

-Grunnen til variasjon: Hvorvidt bakteriene har enzymer som superoxid dismutase (SOD) og katalase som kan nøytralisere giftig oksygen.

Superoxid dismutase (SOD): $O_2^- + O_2^- \rightarrow H_2O_2 + O_2$

Catalase: $2H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$ (eventuelt peroxidase: $H_2O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O$.)

-**Obligat aerobe**, og, **fakultativ anaerobe** (foretrekker oksygen, men kan også vokse anaerobt), har begge både SOD og katalase.

-**Obligat anaerobe** mangler begge enzymer og tåler derfor ikke oksygen.

Pluss: -**Mikroaerofile** krever noe oksygen men mangler begge enzymene. Dør hvis de eksponeres for normal atmosfærisk oksygen.

Pluss: -**Aerotolerante anaerobe** har kun SOD.

Oppgave 4

a) Definer virus.

Infeksiøs, obligat intracellulær parasitt, består av et genom (RNA eller DNA) omsluttet av en proteinkappe og/eller en membran.

Dvs: den sprer seg fra en vertscelle til en annen. Må snylte på en vertscelle: har behov for cellens replikasjons-, transkripsjons- og translasjonssystem for å bli multiplisert.

b) Hva koder et virusgenom for?

Hvilken genetisk informasjon har vi per i dag ikke funnet i virus?

Hvorfor poengtere hva virusgenomet ikke koder for?

Genprodukt og reguleringssignal som gjør viruset i stand til å:

- replikere virusgenomet
- samle og pakke genomet
- regulere og time replikasjonssyklusen
- modulere (forandre) vertens immunforsvar
- spre seg til andre celler

Ikke funnet gener som koder for *hele* maskineriet for proteinsyntese,

for proteiner involvert i energiproduksjon

for proteiner involvert biosyntese av lipidmembran

Mangler også klassiske centromerer eller telomerer

Poengeteres pga gigantvirusene som er oppdaget de siste årene. Har enorme genom som koder for deler av replikasjons-, transkripsjons- eller translasjonssystemet. En del av diskusjonen om virus kan defineres som levende eller ikke.

c) Hva menes med cytopatisk effekt?

Gi eksempler på cytopatisk effekt.

CPE: Noen virus produserer *synlige forandringer* etter virusinfeksjon

- Lysis: cella dør.
- Forandret cellestørrelse og / eller form
- Dannet vacuoler i cytoplasma
- Fusjonerte celler som danner kjempecelle (syncytie) . *Virusinfisert celle uttrykker virale fusjonsproteiner som binder strukturer/reseptorer på uinfiserte naboceller.*
- Dannet inklusjoner i cytoplasma og / eller i cellekjernen. Proteinaktig masse. *(post mortem etter rabies: Negri bodies i hjernevev, diagnostisk). ("Owl eye" halo rundt cellekjerne og kondensert kromatin)*