

# SENSORVEILEDNING

<b>Emnekode:</b>	IRBIO24016
<b>Emnenavn:</b>	Celle- og molekylærbiologi
<b>Eksamensform:</b>	Skriftlig
<b>Dato:</b>	2.januar 2019 kl.09.00-13.00
<b>Faglærer(e):</b>	Maria Dung Cao Mette Lundstrøm Dahl Norunn Konstanse Storbakk
<b>Eventuelt:</b>	Eksamensoppgaven består av fire oppgaver med delspørsmål a, b, og c. Løsningsforslaget bør printes ut i farger.



## Sensorveiledning

### Sensorveiledning

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.

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

- 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 genetik

Studentene skal kunne

- 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 epigenetik

## **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 klassifisering 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 genetik 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 ulike destinasjoner
- 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 via ekstracellulære signalmolekyler
- sammenlikne overflatereseptorene RTK og GPCR
- beskrive Ras-MAPK kaskaden
- gjøre rede for de ulike fasene i en eukaryot cellyklus
- forklare formålet og resultatet av både mitose og meiose
- vite hvorfor det finnes sjekkpunkter i eukaryot cellyklus
- forklare hva cyclin-avhengige kinaser er og deres funksjon i cellyklus
- 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/Benjamin Cummings.

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.

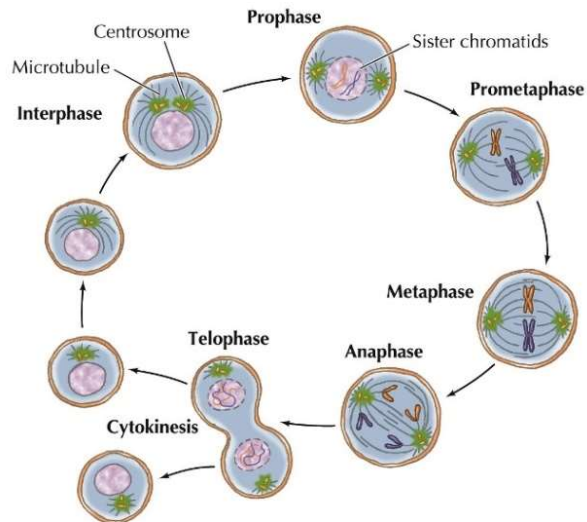
UKE	DAG	TID	ROM	TEMA
<b>MIKROBIOLOGI</b>				
34	Man 20.08.2018	8.15-10.00	S-222	Introduksjon til generell mikrobiologi
	Tirs 21.08.2018	8.15-10.00	S-222	Prokaryote celler
	Ons 22.08.2018	8.15-10.00	S-222	Prokaryote celler. Mikrobielle metabolisme
35	Man 27.08.2018	8.15-10.00	S-222	Mikrobiell vekst
	Tirs 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
<b>GENETIKK</b>				
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
	Ons 12.09.2018	8.15-10.00	S-222	Transkripsjon og genuttrykk
37	Tors 13.09.2018	8.15-10.00	S-222	Translasjon / Proteinsyntese
	Tirs 18.09.2018	12.15-16.00	S-222	Seminar – obligatorisk «Etikk ved assistert befruktning» og «Epigenetikk»
<b>VIRUS</b>				
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
<b>MIKROBIELL GENETIKK OG MOLEKYLÆRBIOLOGISKE METODER</b>				
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
<b>EUKARYOT CELLEBIOLOGI</b>				
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) Tegn og forklar de ulike fasene i mitosen.



THE CELL 5e, Figure 16.21

© 2011 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

Interfase:

- Duplisering av kromosomene og sentrosom

Profase:

- Sentrosomene trekkes til hvert sitt ende av cellen
- Kromosomene kondenseres, *to kromatider holdes sammen ved sentromeren*
- Kjernemembranen brytes ned i slutten av profase

Prometafase:

- *Kjernemembranen er degradert*
- *Mitotisk spindel fester seg til kromosomene*

Metafase:

- Kromosomene posisjoneres midt i den mitotiske spindelen i metafaseplan

Anafase:

- Søsterkromatidene separeres og dras mot hver sin pol av modercellen
- *Kinetokore mikrotubuli trekkes seg sammen*
- Resultat: to sett med identiske kromosomer i hver sin ytterkant av cellen

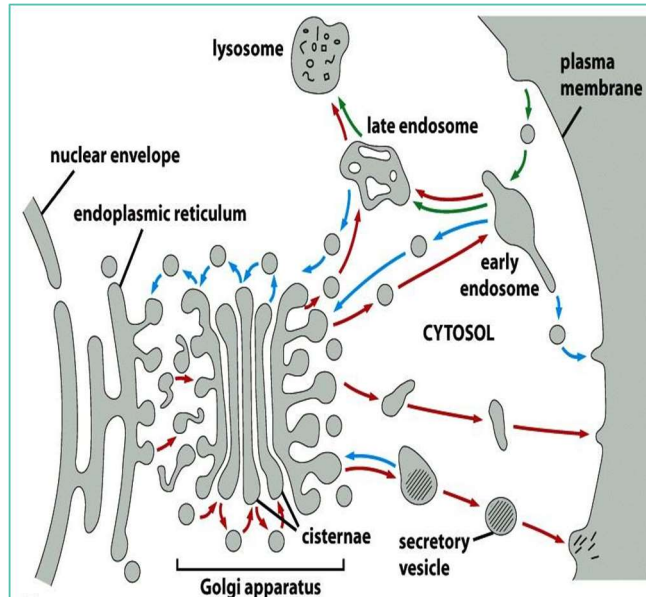
Telofase:

- Kjernemembraner dannes igjen
- Kromosomer dekondenseres

Cytokinese:

- *Det dannes en kontraktile ring bestående av komponenter fra cytoskjelettet*
- Plasmamembranen trekkes innover. Cellen deles i to identiske datterceller.

b) Forklar hvordan proteiner blir sortert via den sekretoriske veien. Nevn de ulike destinasjoner disse proteinene kan bli sortert til.



Ved hjelp av signal recognition particle (SRP) og SRP reseptor på ER membranen blir ribosomet festet til en translokator på ER. Proteinene syntetiseres og føres inn i lumen til ER (*co-translasjon*). *Proteinene transporteres videre som løselige proteiner (i ER lumen og Golgi lumen) eller membranbundet*. Proteinene transporteres via vesikkeltransport til ulike destinasjoner i cellen eller frigjøres ut av cellen.

Proteiner som sorteres via den sekretoriske veien kan ha følgende destinasjoner:

- Blir værende i ER (løslige eller i membranen)
- Blir værende i Golgi (løslige eller i membranen)
- Sendes til lysosomene
- Sendes til endosomene
- Settes i plasmamembranen
- Frigjøres/Ut av cellen

Mot karakter A hvis alle punkter i blå skrift + innhold i rød skrift + alle destinasjoner er nevnt. Plus for riktig tegning.

c) Gi en kort forklaring av uttrykkene:

i. Tumor suppressor gen

Produktene fra tumor suppressor gener (d.v.s. proteinene/enzymene) jobber normalt for å hemme proliferering og overlevelse. Dersom disse inaktiveres blir det ingen hemming på cellyklus og kan føre til ukontrollert celledeling.

*Eks. Retinablastoma protein (Rb), p53, pTEN. Alle er negative regulatorer av cellyklusprogresjon og er ofte mutert med kreft.*

ii. Mutert RAS

Mutert RAS er et onkogen som kan indusere krefttegn i en normal celle. Overuttrykk av Ras kan føre til ukontrollert celledeling. Mutasjon i RAS gen er assosiert med flere ulike krefttyper. *Ras er en viktig monomerisk GTPase signalmolekyl i MAPK signalveien.*

iii. Angiogenese

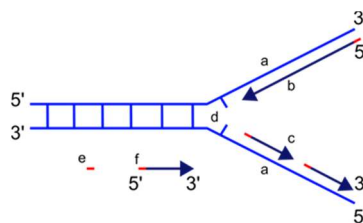
Nydanning av blodårer. *Viktig egenskap ved utvikling av kreft.*

## Oppgave 2

a) Hva er semikonservativ replikasjon? Forklar kort hvordan replikasjon av de to DNA-trådene forgår.

To originale tråder brukes som templat for ny-syntese og det resulterer i to dobbeltrådede replika med en ny og en gammel tråd. 50% (semi) «konserverte».

Begge de nye trådene kan ikke syntetiseres kontinuerlig, men kun den ene hvor templatet syntetiseres 5'-3' (leading strand). DNA-pol kan kun polymerisere i 5'-3' retning. Det løses ved at det syntetiseres DNA-fragmenter motsatt vei av replikasjonsgaffelen; Okazaki-fragmenter (lagging/etternøylene tråd). *Bonus om det forklares at disse trenger en primer og at denne er laget av RNA og syntetiseres av primase. Deretter må RNA fjernes av en exonuklease og hullene tettes igjen hva DNA-pol og ligase slik at det blir en kontinuerlig DNA-tråd.*

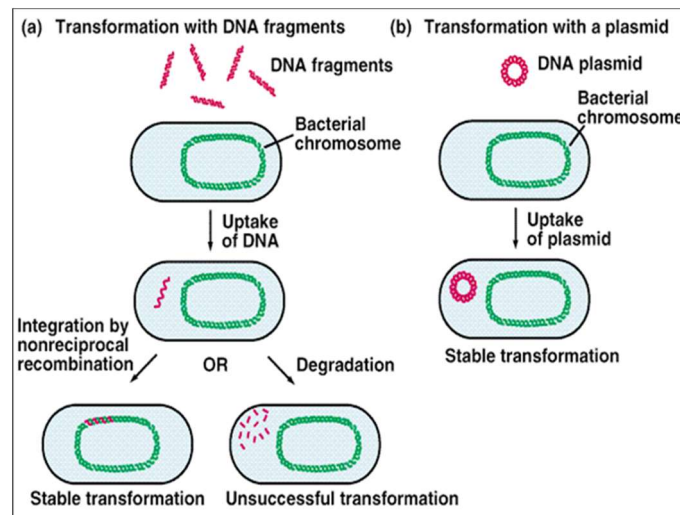


b) Hva er transformasjon i molekylærbiologien? Beskriv hva som skjer ved de to vanligste formene for transformasjon.

Opptak av fritt/nakent DNA fra omgivelsene. *En recipientcelle tar opp donor-DNA fra omgivelsene, som regel fra døde bakterier som har gått i oppløsning, og blir dermed en transformert bakteriecelle.*

Transformasjon med DNA-fragmenter (a): Biter av fritt DNA tas opp gjennom celleveggen til en bakterie. DNA'et kan integreres i bakteriens kromosom = stabil transformasjon. *Kun enveis overføring (nonreciprocal).* DNA som ikke integreres vil degraderes i cellen.

Transformasjon med plasmid (b): Et plasmid kan tas opp gjennom celleveggen til en bakterie. Plasmidet vil som oftest eksistere fritt i cellen, *og kan gi cellen nye egenskaper.*



c) Hvilke komponenter inngår i en PCR-reaksjon? Beskriv funksjonen til hver komponent.

DNA-polymerase, dNTP, primere og templat.

DNA-polymerase: Enzym som katalyserer dannelsen av en ny DNA-tråd basert på DNA-tråd som allerede eksisterer. *Termostabilt enzym.*

dNTP: Frie nukleotider. De fire nukleotidene dATP, dGTP, dCTP og dTTP.

«Byggesteiner» som danner den nye DNA-tråden *etter oppskrift fra den eksisterende tråden. Blir satt inn av DNA-polymerasen.*

Primere: Oligonukleotider som fungerer som startsekvens for polymerasen, med 3'-OH-ende hvor DNA pol kan bygge inn frie nukleotider. *Primerne fester seg spesifikt til DNA-sekvensen vi ønsker å amplifisere.*

Templat: DNA som inneholder sekvensen som skal amplifiseres



### Oppgave 3

- a) Forklar hvordan celleveggen hos en grampositiv og en gramnegativ bakterie er bygd opp, og hvordan kunnskap om dette hjelper oss i identifikasjon av bakteriene.

**Grampositiv:** Celleveggen har ytterst et tykt, *flerlaget peptidoglykan med teikoinsyre og lipoteikoinsyre. Teikoinsyre er festet til peptidoglykanlaget og lipoteikoinsyre er festet til plasmamembranen.*

*Peptidoglykan består av et nettverk av repeterte sekvenser av disakkaridene N-acetylglukosamin (NAG) og N-acetylmuraminsyre (NAG). Radene i nettverket er bundet sammen av polypeptider.*

*Innenfor peptidoglykanet ligger plasmamembranen som består av fosfolipider.*

**Gramnegativ:** Celleveggen har en *ytermembran og en innermembran (plasmamembran) som begge består av fosfolipider. I mellom de to membranene ligger periplasma og her finner vi et tynt peptidoglykanlag (1 eller 2 lag). På ytermembranen sitter lipopolysakkarider (LPS). Dette er endoksiner som frigis når bakterien dør og celleveggen går i oppløsning.*

Ved identifikasjon av bakterier grovsorteres de i forhold til gramegenskaper. Om de er grampositive eller gramnegative er avgjørende for hvilke valg man gjør videre mhp identifikasjon.

- b) Beskriv **to** metoder som benytter varme for å kontrollere mikrobiell vekst.

*Kandidaten må beskrive TO av metodene under:*

**Autoklaving** (sterilisering): Denaturerer bakteriens proteiner, i autoklaven er det vann som generer damp når temperaturen stiger og alle mikroorganismer som kommer i kontakt med den varme dampen drepes effektivt. *For å få temperaturen høy nok må trykket også være høyt. Jo høyere trykk, jo høyere temperatur på dampen. Trykk på 15 psi (pounds of pressure per square inch) gir 121°C.*

Autoklaving brukes til å sterilisere dyrkningsmedier og utstyr.

**Pasteurisering:** Lavere temperaturer enn autoklaving, og kortere tid. Eks. behandling av melk: 72°C i 15 sekunder. Dreper de fleste patogene mikrober, steriliserer ikke. *Enkelte mikrober overlever, men utgjør ingen fare for mennesker. Antall mikrober blir så lavt at produktet holder seg godt i kjøleskap.*

**Tørrsterilisering** som f.eks. varmluftsterilisering. Utstyr plasseres i en ovn ved 160-170°C i 2 timer. *Luft leder varme dårligere enn vann, og derfor trengs høyere temperatur og lenger tid.*

c) Gi en kort forklaring av uttrykkene:

i. Colony forming units (CFU)

Antall bakterieceller som danner kolonier på et fast vekstmedium. Ikke alle danner kolonier, så målet er ikke eksakt i forhold til hvor mange bakterier som eksisterer i løsningen.

ii. Halotolerant

Mikrober som tåler høye saltkonsentrasjoner

iii. Differensierende dyrkningsmedier

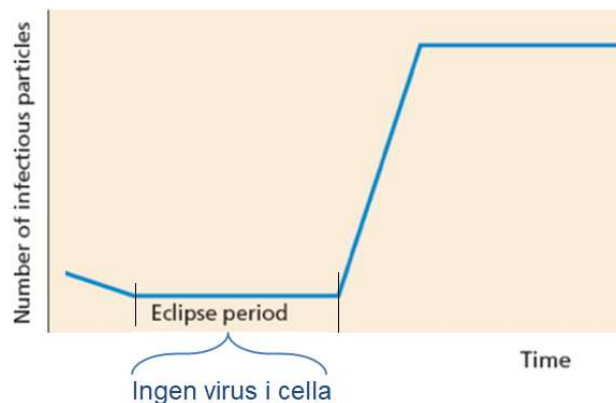
Vekstmedier (som regel bakterieskåler) der det er mulig å skille mellom ulike bakterier på en og samme skål.

iv. Inokulering

Overføring av mikroorganismer til et medium (fast eller flytende)

#### Oppgave 4

a) Tegne en viral vekstkurve. Beskriv og begrunn kurven.



Definere viruset. Minimum: *Virus er et genom omsluttet en proteinkappe.*

One step vekstkurve. *I motsetning til bakteriell vekstkurve: bakterier deles ved binær fisjon.* Etter at et gitt antall virus har infisert cellen (attachment og entry) mister genomet proteinkappen (uncoating): Kurven synker til det ikke lenger finnes hele viruspartikler (infeksjonspartikler) i cellen: nådd eklipsefasen. I eklipsefasen replikeres (multipliseres) viralt genom (DNA eller RNA), virusproteiner uttrykkes. De ferdige proteinene og genom settes til slutt sammen/modnes (assembly) til hele viruspartikler: Har nå ferdige infeksjonspartikler og kurven stiger bratt.

*Observeres enten man teller viruspartiklene inne i cellen eller etter at de er ute av cellen (release), men man observerer en tidsforskyvelse). «Time»: varierer med virustype og vertscelle.*

**b)** Nevn de 7 virale genomklassene i Baltimors klassifikasjon.  
Hva er grunnlaget for Baltimors klassifikasjon?

1. dsDNA (ds: dobbeltrådig)
2. ssDNA (ss: enkelttrådig)
3. dsRNA
4. (+) ssRNA
5. (-) ssRNA
6. (+) ss RNA med DNA intermediat
7. gapped ds DNA

- Virus er obligate cellulære parasitter som **-må** inn i en celle for å kunne replikeres: genomet **må danne mRNA** som kan leses av vertens ribosomer. *Klassifikasjon vha genomtypene angir hvordan mRNA må dannes, dvs genomet viser replikasjonstrategien viruset må benytte.*

**c)** Hva er riktig av følgende utsagn? Begrunn svaret.

- i. dsRNA genom kan translateres direkte til virale proteiner
- ii. RNA genom kan kopieres av vertscellens RNA avhengige RNA polymerase
- iii. (+)ssRNA genom kan bli translateret til virale proteiner
- iv. (+)ssRNA replikasjonsyklus krever ikke (-)ssRNA intermediat
- v. Alle

iii: (+)ssRNA genom kan bli translateret til virale proteiner: *+ssRNA defineres som tilsvarende et mRNA.*

Vedlegg til sensorveiledning (legges ved av administrativt ansvarlig):

1. Oppgavesett
2. Forklaring av karakterskala, nasjonalt fagråds generelle beskrivelser/krav