

# Om-Tenta för KMB056/KMB055, 2007-08-31

EN numrerad fråga besvaras/blad (10a-j=1 fråga)! Generellt gäller att svaren bör vara kortfattade och koncisa (max en A4-sida/fråga).  
(låg poäng  $\approx$  kort svar, hög poäng  $\approx$  längre svar)

totalt 50 poäng (25 p = 3/godkänt, 32.5 p = 4, 40 p = 5)

1. Du är intresserad av proteinet XXX och önskar rena fram det för att se om det interagerar med andra intressanta proteiner. Du kommer fram till att det nog är bäst att uttrycka ett fusions-protein där ditt protein XXX är kopplat till en protein-domän som möjliggör affinitetsrening. Eftersom du vill undvika att överuttrycka ditt protein så vill du föra in din fusions-protein-domän innan stop-kodonet för ditt protein på rätt plats i kromosomen. Beskriv hur du skulle gå till väga för att åstadkomma din gen-fusion, samt beskriv även kortfattat principen för en möjlig affinitetsrenings-strategi kopplat till din fusionsgen (du får själv välja en renings-domän). (8 p)
2. Nu vill du separera din slutliga protein-renings-fraktion på två-dimensionell gel-elektrofores (2D-PAGE), beskriv hur denna metod fungerar samt hur du skulle detektera de separerade proteinerna. (5 p)
3. Din 2D-PAGE separation visar att ytterligare ett protein följer med som potentiellt intressant interaktionspartner. Du har bara en MALDI-TOF mass-spektrometer till ditt förfogande. Beskriv principen för att identifiera ditt protein med denna mass-spektrometer (4 p).
4. Från mass-spektrometrisk identifiering i föregående fråga vet du nu vilken gen som kodar för det interagerande proteinet. Av olika skäl vill du nu klonas denna gen på en plasmid, beskriv hur du skulle gå tillväga, samt vilka gener och DNA-element som måste finnas på plasmiden för att den ska vara användbar (5 p)
5. Din plasmid innehållande det lilla proteinets gen finns nu tillgänglig. Du vet från mass-spektrometrin också att serin nummer 36 är fosforylerat och vill testa effekten av att mutera detta serin till alanin. Hur skulle du gå tillväga för att göra din mutation m h a "site directed mutagenesis"? (5 p)
6. I föregående fråga har du konstruerat en muterad gen på plasmid, och nu vill du veta om DNA-sekvensen är rätt. Oftast skickar man bara in sin plasmid till något sekvenseringsföretag, men hur går egentligen sekvenseringsreaktionen till (enligt Sanger)? och hur kan vi läsa ut sekvensen från denna reaktion (4 p)
7. Om du nu vill veta var i cellen proteinet som du identifierade i fråga 2 är lokaliserat, hur skulle du gå tillväga? (2 p)
8. När du nu ändå har renat upp ditt proteinkomplex så vill du också gärna veta strukturen på det. Vilka två huvudtekniker är användbara för detta syfte? (2 p)

9. Som tur var finns också en deletionsmutant i genen som kodar för ditt intressanta lilla protein tillgänglig. Du vill undersöka hur denna deletion påverkar genuttrycket. Antagligen vill du göra en cDNA-microarray-analys, hur skulle du gå tillväga, och hur funkar den aktuella tekniken? (5 p)
10. Beskriv mycket kortfattat (1-2 meningar) följande 10 termer (1 p/term):
- a. Taq-polymeras
  - b. två-hybrid-screen
  - c. blå-vit selektion
  - d. monoklonal antikropp
  - e. Q-PCR
  - f. Electrospray injektion (ESI)
  - g. etidiumbromid
  - h. Tiling array
  - i. northern blotting
  - j. revers-transkriptas