

# Molekyylibiologia I, tentti 24.10.2018

740373A (4op) / 740361A (8op)

Kirjoita vastauksesi kysymyksiin 1-3 ja kysymyksiin 4-6 erillisille papereille.  
Write your answers for questions 1-3 and 4-6 on separate sheets of paper.

1. Kuvassa on eukariotittisen kromosomin pää. Mitä kuvassa oleva kaavio esittää? (6p)

Kuvaile kaavion eri vaiheet ja kerro miksi kyseinen prosessi on välttämätön.

1. The picture shows and end of a eukaryotic chromosome. What is the process that the scheme represents? (6p)

Describe each of the steps in the scheme and explain why this process is essential.

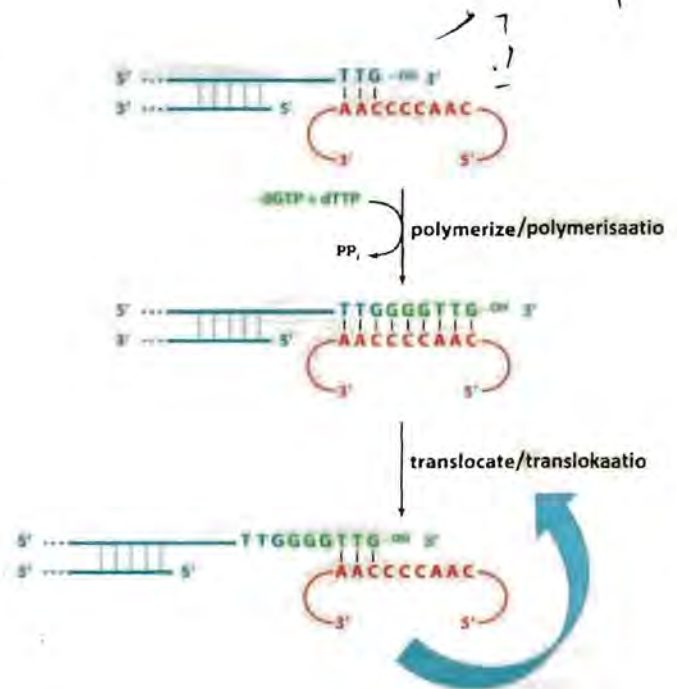


Figure 20-49  
© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

2. Selitä termit "koodaava juoste", "ei-koodaava/templaatti juoste" sekä "UTR". Kerro mitä tekemistä niillä on lähetti-RNA:n kanssa. (6p)

2. Explain the terms "coding strand", "antisense/template strand" and "UTR". How are they related to messenger-RNA? (6p)

3. Totta vai tarua? Korjaa väärät väitteet. (6p)

True or false? Correct false statements. (6p)

a) DNA-metylaatio tapahtuu vain naisten X-kromosomissa.  
DNA methylation only takes place in female X-chromosome.

b) Vaihtohtoisen silmukoinnin säätelyssä ovat keskeisessä asemassa transkriptiin sitoutuvat pienet tumen ribonukleoproteiinit (snRNPs), jotka tunnistavat transkriptissä olevia sekvenssejä.

Small nuclear ribonucleoproteins - snRNPs are central for the regulation of alternative splicing by recognizing and binding to specific sequences in the transcript.

- c) E. Colin laktoosioperonin aktivaatio vaatii sekä repressorin että aktivaattorin sitoutumista promoottorialueelle.  
Full activation of the E. Coli lactose-operon requires binding of both repressor and activator to the promoter region.
- d) Siirtäjä-RNA:t liittävät RNA:ta toisiinsa DNA-ketjun sekvenssin ohjeiden mukaisesti.  
Transfer-RNAs attach RNA-bases into chains according to the instructions coded by the DNA sequence.
- e) Ribotsyymi on RNA-molekyyli, jolla on katalyyttistä aktiivisuutta.  
Ribozyme is an RNA with catalytic activity.
- f) Eukariotisoluissa on 64 siirtäjä RNA:ta, joista kolme on liittyneenä lopetusamino happoon.  
Eukaryotic cells contain 64 transfer-RNAs, three of which are attached to a termination amino acid.

#### 4. PCR

- a) PCR:n peruseriaate. (4p)

Describe the basic principle of PCR. (4p)

- b) Mikä annetuista alukepareista (vaihtoehdot A-E) sinun tulee valita kloonataksesi alla olevan geenin oheiseen vektoriin pUC19. Perustele valintasi. T<sub>m</sub>:t on laskettu komplementaariselta alueelta Nearest Neighbor -algoritilla. Vektorikartta, kloonattavan geenin sekvenssi ja restriktioanalyysi valikoiduille restriktioentsyymeille löytyvät alta. (2p)

Which of the following primer pairs (A-E) you need to choose in order to clone the gene below to vector pUC19. Justify your choice. T<sub>m</sub>s have been calculated from the complementary region using Nearest Neighbor -algorithm. Plasmid map for the vector, the sequence for the gene of interest and the restriction map for selected set of restriction enzymes are given below. (2p)

#### Alukeparivaihtoehdot:

##### Possible primer pairs:

- A:** forward: TTTTTTGGATCCATGGATCCAAACATGAACGAAAGAGTGG (T<sub>m</sub> = 64,0°C)  
reverse: TTTTTTCTGCAGTTAACGCCGCTGATCTGCAGC (T<sub>m</sub> = 64,8°C)
- B:** forward: TTTTTT<sup>Sall</sup>GTCGACATGGATCCAAACATGAACGAAAGAGTGG (T<sub>m</sub> = 64,0°C)  
reverse: TTTTTTGAATTC<sup>EcoRI</sup>TTAACGCCGCTGATCTGCAGC (T<sub>m</sub> = 64,8°C)
- C:** forward: TTTTTT<sup>EcoRI</sup>GTCGAC<sup>Sall</sup>ATGGATCCAAACATGAACGAAAGAGTGG (T<sub>m</sub> = 64,0°C)  
reverse: TTTTTTGAATTC<sup>EcoRI</sup>CAATTGCGGCGACTAGACGTCG (T<sub>m</sub> = 64,8°C)
- D:** forward: TTTTTTGTGCGACTACCTAGGTTTGTACTTGTCTTCTCACC (T<sub>m</sub> = 64,0°C)  
reverse: TTTTTTCTAGAAATTGCGGCGACTAGACGTCG (T<sub>m</sub> = 64,8°C)
- E:** Ei mikään edellisistä.  
**None of the above.**

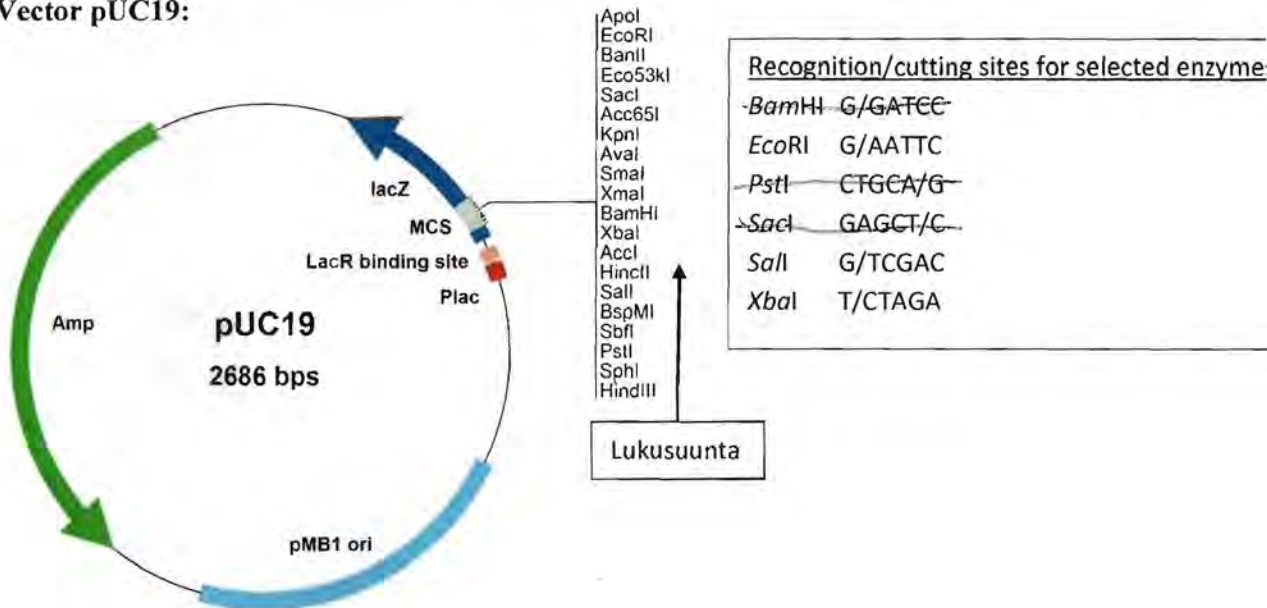
EcoRI G/AATTC      XbaI T/CTAGA  
Sall G/TCGAC

**Siirrettävä geeni (cDNA, vain proteiinia koodaava alue, 369 bp):**

The gene of interest (cDNA, only protein coding region, 369 bp):

ATGGATCCAAACATGAACGAAAGAGTGGCGTTTTTAGGGCTGTTGTTGGTTTCTGCCTGCGCATCA  
 GTTTTTCGCTGCCAATAATGAAACCAGCAAGTCGGTCACTTTCCCAAAGTGTGAGCTCCTGGATGCT  
 GCCGGAATTGCCGCGAGCGTAAAACGTGATTATCAACAAAATCGCGTGGCGCGTTGGGCAGATGAT  
 CAAAAAATTGTCGGTCAGGCCGATCCCGTGGCTTGGGTGAGTTTGCAGGACATTGAGGGTAAAGAT  
 GATAAATGGTCAGTACCGCTAACCGTGGTGGTAAAAGTGCCGATATTCATTACCAGGTCAGCGTG  
 GACTGCAAAGCGGGAATGGCTGCAGATCAGCGGCGTTAA

**Vector pUC19:**



**Restriction analysis for the gene of interest:**

- Custom digest with all enzymes included in the MCS of the vector

**Custom Digest**  
 Linear Sequence: unnamed sequence

Sequence digested with: BamHI, PstI, SacI

Cleavage code	Enzyme name code
blunt end cut	Available from NEB
5' extension	Not other suppliers
3' extension	Not commercially available
cuts 1 strand	cleavage affected by CpG methylation
	cleavage affected by other methylation
	(enz. name): ambiguous site

**5. Kerro yhdestä DNA-sekvensointimenetelmästä. (6p)**

Describe one DNA-sequencing method. (6p)